

NI KETUT SARI

PEMANFATAN BIOSOLID

PENERBIT
YAYASAN HUMANIORA

PEMANFATAN BIOSOLID

Oleh : **Ni Ketut Sari**

Edisi Pertama

Cetakan Pertama, 2010

Hak Cipta © 2008 pada penulis,

Hak Cipta dilindungi oleh Undang-undang. Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun, secara elektronis maupun mekanis, termasuk memphoto copy, merekam atau dengan teknik perekaman lainnya tanpa izin tertulis dari penulis dan penerbit. Isi buku merupakan tanggung jawab penulis.

P E N E R B I T :

Yayasan Humaniora

Jl. Melati gang Apel No. 6

Klaten 57412

E-mail : humaniorapenerbit@yahoo.co.id

Yulistiani, Ratna

DASAR-DASAR MIKROBIOLOGI PANGAN/

Ratna Yulistiani

- Edisi Pertama-Klaten; Yayasan Humaniora, 2008
x + 290 hlm, 1 Jil. : 23 cm

ISBN : 978-979-3327-57-0

1. TEKNOLOGI (TEKNIK)

I. Judul



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan buku dengan judul "Pemanfaatan Biosolid " .

Bahan yang disajikan di dalam buku ini penulis susun sebagai upaya memperkenalkan Pemanfaatan Biosolid Menjadi Pupuk yang dapat dipergunakan sebagai acuan bagi para mahasiswa dan peneliti yang mempelajari bidang Pemanfaatan Limbah Menjadi Pupuk.

Dalam buku ini dibahas tentang Biosolid, Mikrobiologi, Penanaman Mikrobiologi, Klasifikasi Mikrobiologi, Pertumbuhan Jasad Renik, Sterilisasi, Mikroskop, Analisa Kuantitatif Mikrobiologi pada Limbah Padat, Sifat dan Klasifikasi Mikroba, Bakteri dan Pupuk.

Selama penyusunan buku ini penulis menyadari masih jauh dari sempurna, oleh karenanya penulis mengharap adanya kritik dan saran demi penyempurnaan buku ini. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jawa Timur yang dengan prakarsanya memacu minat penulis untuk menyusun buku ini.

Ucapan terima kasih penulis tujukan pula kepada semua pihak yang telah membantu mulai dari awal persiapan sampai terlaksananya penerbitan buku ini. Semoga apa yang tertuang dalam buku ini dapat menjadi pegangan bagi mahasiswa atau peneliti yang mempelajari bidang Pemanfaatan Pemanfaatan Limbah Menjadi Pupuk dan Biocar.

Surabaya, September 2010

Penulis



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR

DAFTAR ISI

BAB 1	BIOSOLID
	1.1. Pendahuluan
	1.2. Latar Belakang
	1.3. Roadmap Kegiatan
BAB 2	MIKROBIOLOGI
	2.1. Pendahuluan
	2.2. Peranan Mikroorganisme dalam bidang Teknologi Pangan
	2.3. Sejarah Mikrobiologi
	2.4. Metabolisme Energi
BAB 3	PENANAMAN MIKROBA
	3.1. Pendahuluan
	3.2. Klasifikasi Mikroorganisme
	3.3. Konsep Mengenal Spesies
	3.4. Katagori Taksonomi (Taksa)
	3.5. Penamaan Mikroorganisme - Nomenklatur Sistem Biner
	3.6. Perkembangan Muthakir dalam Taksonomi Mikroba
	3.7. Ringkasan dan Prospek
BAB 4	KLASIFIKASI MIKROORGANISME
	4.1. Pendahuluan
	4.2. Perbedaan Sel Prokariot dan Eukariot

	4.3.	Membran Sitoplasma
	4.4.	Dinding Sel
	4.5.	Flagela dan Pergerakan Sel
	4.6.	Struktur Khas pada Sel Prokariot
	4.7.	Struktur Khas pada Sel Eukariot
BAB 5		PERTUMBUHAN JASAD RENIK
	5.1.	Pendahuluan
	5.2.	Kurva Pertumbuhan Jasad Renik
	5.3.	Pengaruh Pengawetan Makanan thd Pertumbuhan Jasad Renik
	5.4.	Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Jasad Renik
BAB 6		STERILISASI
	6.1.	Pendahuluan
	6.2.	Macam-macam Cara Sterilisasi
	6.3.	Sterilisasi Secara Fisik
	6.4.	Sterilisasi Secara Kimia
	6.5.	Koefisien Fenol Suatu Desinfektan
	6.6.	Macam-macam Desinfektan
	6.7.	Zat Antimikrobia
BAB 7		MIKROSKOP
	7.1.	Pendahuluan
	7.2.	Lensa dan Pembesaran
	7.3.	Resolving Power
	7.4.	Iluminasi
	7.5.	Mikroskop Kontras
	7.6.	Mikroskop Medan Gelap
	7.7.	Mikroskop Ultra Violet
	7.8.	Mikroskop Fluorescen
	7.9.	Mikroskop Elektron
BAB 8		ANALISIS KUANTITATIF MIKROBIOLOGI PADA LIMBAH PADAT
	8.1.	Pendahuluan

	8.2.	Hitungan Mikroskopik
	8.3.	Hitungan Cawan
	8.4.	Metode MPN (Most Probable Number)
	8.5.	Metode Hitungan Tidak Langsung
	8.6.	Teknik Pemeriksaan Jumlah Bakteri dalam Bahan Pangan
BAB 9		SIFAT DAN KLASIFIKASI MIKROBA
	9.1.	Jamur (Kapang)
	9.2.	Khamir
	9.3.	Bakteri
BAB 10		BAKTERI
	10.1.	Pendahuluan
	10.2.	Pertumbuhan Bakteri pada Bahan Makanan
	10.3.	Klasifikasi Bakteri
	10.4.	Klasifikasi Bakteri
	10.5.	Bakteri Basili Gram Negatif, Anaerobik Fakultatif
	10.6.	Bakteri Basili Gram Negatif, Anaerobik
	10.7.	Bakteri Basili dan Kokobasili Gram Negatif
	10.8.	Bakteri Koki Gram Positif
	10.9.	Bakteri Basili Gram Positif, Tidak Berspora
	10.10.	Bakteri Pembentuk Spora
	10.11.	Bakteri dengan Sel Bercabang/Bertunas
	10.12.	Pengelompokan Bakteri berdasarkan Sifat Pertumbuhannya
	10.13.	Penggunaan Bakteri Dalam Industri
BAB 11		PUPUK
	11.1.	Pendahuluan
	11.2.	Pustaka
	11.3.	Metode Penelitian

DAFTAR PUSTAKA

TENTANG PENULIS

BAB 1

BIOSOLID

1.1. PENDAHULUAN

BIOSOLID merupakan limbah padat yang bersumber dari pengolahan air limbah industri dan limbah rumah tangga secara aerob maupun anaerob. Biosolid ini menjadi permasalahan bagi industri-industri mengingat jumlah biosolid yang dihasilkan cukup besar kurang lebih mencapai 30-40 ton per hari tergantung industri. Pengelolaan yang dilakukan saat ini hanya dipergunakan sebagai tanah urug (land fill) dan dikirim ke Cilengsi untuk dilakukan pengolahan lebih lanjut. Pengelolaan ini membutuhkan biaya yang cukup besar dan tidak memberi nilai ekonomi pada biosolid tersebut.

Berdasarkan kajian literatur dan analisis laboratorium diketahui biosolid mengandung berbagai unsur hara yang dibutuhkan tanaman seperti : Nitrogen (N) : 2-3%, Phosphor (P_2O_5) : 2-4%, Kalium (K_2O) : 0,5-1% dan Sulfur (S) : 0,2-0,4% serta Bahan organik : 26-30%. Disamping mengandung unsur hara, biosolid dari limbah industri dapat mengandung bakteri patogen dan logam-logam berat. Kualitas biosolid yang dihasilkan setiap jenis industri berbeda-beda tergantung jenis industri dan teknologi pengolahan air limbahnya.

Memperhatikan kualitas biosolid yang terdapat pada setiap industri, biosolid ini dapat dimanfaatkan sebagai pupuk, media tanam (karbon atau biochar) yang berfungsi untuk perbaikan kualitas lahan

pertanian dan untuk reklamasi lahan pertanian. Dalam rangka pendayagunaan biosolid untuk menunjang kegiatan pertanian perlu dilakukan pengkajian terlebih dahulu mengenai jenis dan konsentrasi bakteri pathogen dan logam-logam berat yang terkandung dalam biosolid. Salah satu pengkajian yang diusulkan dalam penelitian ini adalah **KAJIAN PROSES PENGOLAHAN DAN KINERJA “BIOSOLID” PADA LAHAN PERTANIAN**

Proses pengolahan biosolid dimaksudkan untuk menurunkan kandungan bakteri pathogen dan logam-logam berat yang terkandung dalam biosolid serta pengolahan biosolid menjadi karbon atau biochar. Produk hasil pengolahan biosolid selanjutnya diaplikasikan pada lahan pertanian untuk mengkaji kinerja biosolid dan karbon pada lahan pertanian. Pengkajian dalam penelitian ini meliputi : Identifikasi kuantitas dan kualitas (fisik, kimia dan biologi) limbah padat biosolid pada berbagai jenis industri, proses pengolahan : Ekstraksi asam-basa dan Karbonisasi serta kinerja biosolid dan karbon (biochar) pada lahan pertanian.

Penelitian dilaksanakan dalam 3 (tiga) tahun yaitu **tahun pertama** mengkaji kuantitas dan kualitas (fisik, kimia dan biologi) biosolid dari berbagai jenis industri, dan proses pengolahan biosolid dengan Ekstraksi Asam-Basa, **tahun kedua** Proses Karbonisasi Biosolid dan **tahun ketiga** mengkaji kinerja biosolid dan karbon pada lahan pertanian

Hasil yang ditargetkan dalam penelitian ini adalah data kuantitas kualitas biosolid untuk jenis industri tertentu, proses pengolahan biosolid terbaik, rekomendasi kelayakan aplikasi biosolid pada lahan pertanian, publikasi ilmiah, bahan ajar pada mata kuliah proses pemisahan, pengelolaan limbah cair, padat dan gas, dan buku tentang pengolahan dan pemanfaatan biosolid.

1.2. LATAR BELAKANG

Pemerintah Indonesia telah lama menetapkan kebijakan tentang Industri Berwawasan Lingkungan dimana setiap industri diharapkan tidak memberikan dampak negatif pada lingkungan. Kebijakan ini telah diikuti oleh berbagai industri dengan membangun Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL). Pengoperasian Instalasi Pengolahan Air Limbah khususnya proses biologi baik biologi aerob maupun anaerob akan menghasilkan produk samping yang disebut dengan *"BIOSOLID"*.

Biosolid menjadi permasalahan yang cukup serius bagi industri bahkan dapat menghentikan proses produksi jika tidak dilakukan pengelolaan secara baik. Pengelolaan biosolid saat ini hanya ditampung pada lahan kosong, pengelolaan ini membutuhkan biaya yang cukup besar meliputi biaya pengadaan lahan dan transportasi serta tidak memiliki nilai ekonomi

Berdasarkan kajian literatur dan analisis laboratorium diketahui biosolid mengandung unsur hara seperti : Nitrogen (N) : 2-3%, Phosphor (P_2O_5) : 2-4%, Kalium (K_2O) : 0,5-1% dan Sulfur (S) : 0,2-0,4% serta Bahan organik : 26-30%. Biosolid juga dapat mengandung bakteri pathogen dan logam-logam berat. Kandungan bakteri pathogen dan logam-logam berat perlu mendapatkan perhatian dalam pengolahan biosolid untuk menghasilkan suatu produk yang bermanfaat dan bernilai ekonomi. Memperhatikan permasalahan yang dihadapi industri, yaitu biaya pengelolaan biosolid yang besar dan belum memiliki nilai ekonomi maka diperlukan pengkajian tentang pemanfaatan biosolid ini menjadi suatu produk yang berguna dan mempunyai nilai ekonomi. Salah satu pengkajian yang diusulkan dalam penelitian ini adalah **"KAJIAN PROSES PENGOLAHAN DAN KINERJA BIOSOLID PADA LAHAN PERTANIAN"**

1.3. ROADMAP PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan selama 3 (tiga) tahun, roadmap kegiatan penelitian seperti tercantum dalam tabel berikut :

Tabel 1.1. Roadmap kegiatan penelitian

Kegiatan Penelitian	Waktu Penelitian	Strategi Pencapaian Target	Output Kegiatan
Identifikasi kuantitas dan kualitas (fisik, kimia dan biologi) biosolid dari berbagai industri Pengolahan biosolid dengan proses ekstraksi asam-basa	1 Tahun	Penelitian lapangan dan laboratorium : Survey ke beberapa industri dan pengolahan biosolid dengan proses ekstraksi asam : H_3PO_4 , dan basa : KOH	1. Produksi biosolid per hari 2. Konsentrasi : N, P, K, Ca, Mg, S dan Organik Karbon (C) ; Jenis dan Konsentrasi Bakteri pathogen dan logam berat 3. Kualitas produk biosolid terbaik dengan proses ekstraksi asam dan basa 4. Publikasi Ilmiah
Pengolahan biosolid dengan proses Karbonisasi	1 Tahun	Penelitian laboratorium : Proses pengolahan biosolid dengan proses Karbonisasi.	1. Kualitas produk KARBON terbaik dengan proses Karbonisasi 2. Publikasi ilmiah

kinerja biosolid dan Karbon pada lahan pertanian	1 Tahun	Penelitian lapangan aplikasi biosolid pada lahan pertanian dengan jenis tanaman : jagung	1. Dosis biosolid dan karbon perluasan lahan 2. Kualitas fisik, kimia dan biologi lahan pertanian 3. Kuantitas produksi tanaman 4. Rekomendasi aplikasi biosolid pada lahan pertanian 5. Publikais Ilmiah
--	---------	--	---

Penelitian kajian proses pengolahan dan kinerja "biosolid" pada lahan pertanian bertujuan :

1. Mengatasi permasalahan limbah biosolid di Indonesia
2. Meningkatkan daya guna dan nilai ekonomi biosolid
3. Menghasilkan proses dan teknologi pengolahan biosolid
4. Rekomendasi aplikasi biosolid pada lahan pertanian

SISTEMATIKA

Sistematika penelitian kajian proses pengolahan dan kinerja "Biosolid" pada lahan pertanian meliputi :

- ✓ **Survey**, kegiatan kunjungan ke beberapa industri untuk memperoleh data kuantitas dan kualitas biosolid di beberapa industri
- ✓ **Penelitian laboratorium**, kegiatan penelitian laboratorium meliputi analisis kualitas biosolid, proses pengolahan biosolid dengan proses ekstraksi asam-basa dan proses karbonisasi dan analisis kualitas produk biosolid

- ✓ **Penelitian lapangan**, kegiatan penelitian lapangan meliputi aplikasi biosolid dan karbon pada lahan pertanian
- ✓ **Rekomendasi**, rekomendasi ini menentukan kelayakan proses pengolahan dan aplikasi biosolid pada lahan pertanian

PENERAPAN HASIL KEGIATAN

Hasil penelitian dapat diterapkan pada :

1. Industri

Hasil penelitian berupa **proses dan teknologi** pengolahan biosolid dapat diaplikasi pada industri yang memiliki biosolid atau membangun industri baru pengolahan biosolid dengan mengelola biosolid dari beberapa industri

2. Masyarakat

Hasil penelitian berupa rekomendasi aplikasi biosolid dan karbon (biochar) pada lahan pertanian dapat diaplikasikan oleh masyarakat petani untuk menunjang kegiatan pertanian dan memperbaiki sifat fisik, kimia dan biologi lahan pertanian.

1.3. Kebaharuan Penelitian



Biosolid merupakan produk samping (limbah padat) dari pengoperasian Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) khususnya yang melibatkan proses biologi baik aerob maupun anaerob. Berdasarkan studi literatur dan kajian awal analisis

laboratorium diketahui biosolid mengandung unsur-unsur makro dan mikro pupuk seperti ion Nitrogen (N) : 2-3%, Phosphor (P_2O_5) : 2-4%,

Kalium (K_2O) : 0,5-1% dan Sulfur (S) : 0,2-0,4% serta Bahan organik : 26-30%. Disamping mengandung unsur makro dan mikro pupuk, biosolid dapat mengandung bakteri pathogen : total coliforms, fecal coliforms, shigella sp ; salmonella sp, escherichia coli dan logam-logam berat : Arsenic (As), Cadmium (Cd), Chromium (Cr), Copper (Cu), Lead (Pb), Mercury (Hg), Nickel (Ni), Selenium (Se) dan Zinc (Zn). Konsentrasi unsur makro dan mikro pupuk, bakteri pathogen dan logam berat pada biosolid berbeda-beda tergantung pada jenis air limbah dan teknologi pengolahannya.

Kandungan bakteri pathogen dan logam-logam berat pada biosolid merupakan permasalahan dalam pemanfaatan biosolid tersebut khususnya pada aplikasinya untuk lahan pertanian hal ini dapat mengakibatkan pencemaran produk hasil pertanian. Mengacu pada kandungan bakteri pathogen dan logam-logam berat tersebut, maka diperlukan pengkajian tentang kualitas biosolid dari beberapa jenis industri. Pengolahan bakteri pathogen dan logam-logam berat dalam biosolid ini bertujuan agar produk-produk hasil pertanian aman untuk dikonsumsi.



Di Indonesia penelitian tentang pengolahan biosolid menjadi suatu produk yang memiliki nilai ekonomi maupun aplikasinya pada lahan pertanian masih sedikit, sedangkan dibeberapa negara seperti Amerika, Australia, Kanada, China dan negara lainnya telah mengaplikasikan biosolid ini sebagai media yang sangat bermanfaat untuk perbaikan kualitas lahan pertanian, reklamasi lahan pertanian maupun lahan bekas

penambahan serta produksi pupuk dengan proses pengeringan dan composting.

Kebaharuan penelitian ini terletak pada pengolahan biosolid dengan proses ekstraksi asam-basa yang dipergunakan untuk mematikan aktifitas bakteri pathogen dan mengekstraksi logam berat. Pemakaian pelarut asam seperti H_3PO_4 atau HNO_3 disamping dapat mematikan bakteri pathogen juga mengekstraksi logam berat serta meningkatkan unsur hara dengan masuknya (adsorpsi) ion PO_4 dan NO_3 kedalam biosolid, dengan meningkatnya unsur hara maka produk yang dihasilkan layak untuk diaplikasikan pada lahan pertanian. Sedangkan pemakaian pelarut basa seperti KOH atau NaOH difungsikan untuk proses netralisasi, mematikan bakteri pathogen dan meningkatkan unsur hara dalam produk.

Kualitas produk biosolid hasil proses EKSTRAKSI ASAM-BASA mengacu pada standar kualitas yang dikeluarkan oleh Amerika melalui EPA (Environmental Protection Agency). Standar kualitas biosolid yang dapat diaplikasikan pada sektor pertanian menurut EPA seperti tercantum dalam tabel 1.2 dan tabel 1.3, sedangkan berdasarkan standar produk pupuk organik (SNI) seperti tercantum dalam tabel 1.4. Pemenuhan terhadap standar kualitas biosolid yang dapat diaplikasikan pada lahan pertanian dimaksudkan untuk menghindari terjadinya pencemaran lingkungan (air, tanah dan udara) dan pencemaran pada produk-produk hasil pertanian.

Tabel 1.2. Standar Jenis dan Konsentrasi Logam-logam Berat dalam Biosolid

No	Jenis Logam Berat	Konsentrasi (mg/Kg)	No	Jenis Logam Berat	Konsentrasi (mg/Kg)
1	Arsenic (As)	41	6	Mercury (Hg)	17
2	Cadmium (Cd)	39	7	Nickel (Ni)	420
3	Chromium (Cr)	1200	8	Selenium (Se)	36
4	Copper (Cu)	1500	9	Zinc (Zn)	2800
5	Lead (Pb)	300			

Tabel 1.3. Standar Jenis dan Konsentrasi Bakteri Pathogen dalam Biosolid

No	Jenis Bakteri Pathogen	Konsentrasi
1	Total coliforms	0
2	fecal coliforms	0
3	shigella sp	0
4	salmonella sp	0
5	escherichia coli	0

Tabel 1.4. Standar Kualitas Pupuk Organik Padat (SNI)

No	Parameter	Kandungan	
		Pupuk Organik Padat	Pupuk Organik Cair
1	C-Organik (%)	Min 15	≥ 6
2	C/N ratio	12 - 25	----
3	Bahan ikutan (kerikil, bebing, plastik) (%)	≤ 2	----
4	Kadar air (%)	Maks 35	----
5	Kadar logam berat : As (ppm) Hg (ppm) Pb (ppm) Cd (ppm)	≤ 10 ≤ 1 ≤ 50 ≤ 10	≤ 10 ≤ 1 ≤ 50 ≤ 10
6	pH	$\geq 4 - \leq 8$	$\geq 4 - \leq 8$
7	Kadar total : (N + P ₂ O ₅ + K ₂ O) (%)	Dicantumkan	Dicantumkan
8	Kadar unsur mikro	Dicantumkan	Dicantumkan
9	Kadar Zn, Cu, Mn, Co, Fe	Dicantumkan	Dicantumkan
10	Mikroba pathogen : E-Coli Salmonella (sel/ml)	Dicantumkan	Dicantumkan

Pada proses karbonisasi biosolid dihasilkan produk "KARBON" atau



dengan istilah "BIOCHAR" yaitu produk dengan kandungan karbon yang tinggi yaitu > 90 %.

Proses karbonisasi biosolid dilakukan dalam sebuah bejana tertutup pada temperatur operasi dibawah 800°C dan waktu karbonisasi

tertentu. Produk karbon atau biochar ini disamping mengandung karbon yang tinggi juga mengandung berbagai unsur hara yang dibutuhkan oleh tanaman seperti : Nitrogen (N), Phosphor (P), Kalium (K), Magnesium (Mg), Kalsium (Ca) dan Daya Serap Air yang tinggi. Produk karbon atau biochar ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan bakar padat dan perbaikan kualitas tanah karena karbon ini mempunyai nilai kalor, pori-pori yang dapat menyerap unsur hara dan penyimpanan unsur hara atau menahan air, media pertumbuhan bakteri, mengandung unsur hara sehingga dapat mengurangi pemakaian pupuk.

Kualitas produk karbon atau biochar dengan bahan baku lain seperti tercantum dalam tabel 1.5, tabel 1.6 dan tabel 1.7 berikut :

Tabel 1.5. Komposisi kimia karbon limbah pertanian:

Jenis Bahan	Abu	Ca	Fe	Mg	K	P
	%	mg/kg				
Bagasse	2,9	1500	130	6300	2700	280
Coconut shell	0,7	1500	120	390	2000	90
Rice Straw	19,8	4800	200	6300	5400	750
Saw dust	0,44	170.000	29.000	27.000		
Waste wood	8,8	130.000	10.000	19.000		

Tabel 1.6. Komposisi kimia karbon limbah pertanian

Jenis Bahan	H/C	O/C	C/N	H/O	OC
	mg/gram				
Wood biochar	0,07		105		540
Coconut shell biochar	0,605	0,165	73,8	0,2	693
Rice Straw biochar	0,726	0,2325	37,3	0,2	493
Bagasse biochar	0,605	0,165	40,3	0,2	714

Tabel 1.7. Kualitas fisik karbon :

Parameter	Surface Area (m ² /g)	Volume (m ³ /g)
Micropores	750 - 1360	0,2 – 0,5
Macropores	51 - 138	0,6 – 1,0
Densitas	2,0 – 2,1 gram/cm ³	

Berdasarkan data-data yang tercantum dalam tabel 1.5, tabel 1.6, dan tabel 1.7 dapat diketahui bahwa kualitas karbon yang dihasilkan dipengaruhi oleh bahan baku limbah pertanian yang dipergunakan.

Penelitian produksi karbon dari biosolid masih terbatas di Indonesia sedangkan kebutuhan unsur karbon bagi pertanian cukup besar, sehingga produk karbon ini menjadi salah satu pertimbangan untuk dikembangkan sebagai industri.

BAB 2

MIKROBIOLOGI

2.1 PENDAHULUAN

Mikrobiologi berasal dari bahasa Yunani, dari kata "*mikros*" yang berarti kecil, "*bios*" yang berarti hidup dan "*logos*" yang berarti ilmu. Jadi definisi mikrobiologi adalah suatu ilmu yang mempelajari kehidupan makhluk yang bersifat mikroskopik yang disebut "**Mikroorganisme**" atau "**Jasad renik**".

Mikroorganisme adalah makhluk yang mempunyai ukuran sel yang sangat kecil dimana setiap selnya hanya dapat dilihat dengan pertolongan mikroskop.

Apakah yang termasuk mikroorganisme itu ?

Pada umumnya kita mengambil ketentuan, bahwa semua makhluk yang berukuran beberapa mikron atau lebih kecil lagi itu kita sebut mikroorganisme. Satu mikron disingkat menjadi $1 \mu = 0,01 \text{ mm}$. Jadi yang termasuk mikroorganisme antara lain :

1. Bakteri
2. Cendawan atau jamur tingkat rendah
3. Ragi, yang menurut sistematik masuk bangsa jamur juga.
4. Ganggang/algae
5. Protozoa atau hewan bersel satu
6. Virus (**Makhluk Ultra Mikroskop**)

Bakteri, cendawan, ragi, ganggang/alga, protozoa mempunyai ukuran dalam satuan mikron (μ) dan bisa diamati dengan menggunakan mikroskop biasa ; sedangkan Virus mempunyai ukuran yang sangat kecil,

yaitu dalam satuan μm ($1 \mu\text{m} = 0,01 \mu$) sehingga virus ini dinamakan "**Makhluk Ultra Mikroskop**" dan untuk mengamatinya hanya bisa digunakan mikroskop elektron.

Mikrobiologi mencakup pengetahuan tentang virus (Virologi), pengetahuan tentang bakteri (Bakteriologi), pengetahuan tentang hewan bersel satu (Protozoologi), pengetahuan tentang jamur (Mikologi), terutama yang meliputi jamur-jamur rendah seperti **Phycomycetes**, dan juga **Ascomycetes** serta **Deuteromycetes**.

Bagaimana membedakan barang mati dengan mikroorganisme ?

Tidaklah mudah bagi seseorang untuk mengatakan dengan tegas apakah sesuatu yang sangat halus itu termasuk makhluk hidup ataukah barang mati. Kedudukan virus dalam hal ini sulit untuk dijelaskan, tetapi umumnya orang condong untuk mengatakan virus itu mikroorganisme juga.

Pada umumnya dapatlah kita berikan kriteria hidup itu sebagai berikut:

- a. Makhluk hidup mengadakan pertukaran zat atau metabolisme, yaitu mengambil zat makanan dan membuang sisa makanan.
- b. Makhluk hidup mengalami pertumbuhan, semula kecil kemudian bertambah besar.
- c. Makhluk hidup mengadakan pembiakan atau reproduksi, semula jumlahnya sedikit, kemudian jumlah itu menjadi besar.
- d. Makhluk hidup mempunyai tanggapan terhadap pengaruh dari luar, tanggapan mana berguna bagi keseluruhan hidupnya.
- e. Makhluk hidup mengadakan gerak, meskipun kadang-kadang sukar untuk diamati. Banyak mikroorganisme yang sama sekali tidak mempunyai gerak, namun mereka tetap termasuk makhluk hidup, karena memenuhi keempat kriteria lainnya.

2.2 PERANAN MIKROBIOLOGI DALAM BIDANG TEKNOLOGI INDUSTRI

Makanan merupakan kebutuhan pokok bagi setiap manusia, karena di dalamnya terkandung senyawa-senyawa yang sangat diperlukan untuk memulihkan dan memperbaiki jaringan tubuh yang rusak, mengatur proses di dalam tubuh, perkembangbiakan dan menghasilkan energi untuk kepentingan berbagai kegiatan dalam kehidupannya.

Bahan makanan dengan komposisi demikian merupakan medium pertumbuhan mikroba. Dalam pertumbuhannya, jasad renik ini bergantung pada jenisnya, dapat membusukkan protein, memfermentasikan karbohidrat dan menjadikan lemak dan minyak berbau tengik.

Dalam bidang Teknologi Pangan, Mikrobiologi Pangan merupakan ilmu yang sangat penting, misalnya :

1. Dalam hubungan dengan **kerusakan atau kebusukan makanan** sehingga dapat diketahui tindakan pencegahan atau pengawetan yang paling tepat untuk menghindari terjadinya kerusakan tersebut.
2. Dalam fermentasi makanan, sanitasi, pengawasan mutu pangan dan sebagainya.

Populasi mikroorganisme dalam setiap makanan dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti tersedianya nutrien, air, suhu, pH, oksigen, potensial oksidasi reduksi dan adanya zat penghambat. Bila jasad renik populasinya meningkat, dapat menimbulkan berbagai masalah antara lain:

1. Dapat menentukan taraf mutu makanan.
2. Mengakibatkan kerusakan pangan.
3. Beberapa diantaranya dapat digunakan untuk membuat produk-produk pangan khusus.
4. Merupakan sarana penularan beberapa penyakit perut menular.
5. Keracunan makanan, yang tidak jarang menimbulkan kematian.

Dengan demikian keberadaan mikroorganisme yang ada pada umumnya mikroorganisme pencemar, dapat menimbulkan kerugian tapi dapat pula menguntungkan.

Dalam bidang Teknologi Pangan, mikroorganisme dapat bersifat :

1. Mendatangkan keuntungan

a. Berperan di dalam proses pembuatan pangan khusus.

Berbagai jenis makanan dan minuman hasil fermentasi, seperti tempe, kecap, taoco, bekacem, sosis, keju, bier, brem, tuak, anggur dan sebagainya telah sejak lama dikenal melengkapi menu makanan dan minuman sehari-hari. Makanan dan minuman tersebut diolah secara fermentasi dengan menggunakan kemampuan mikroba. Dalam fermentasi makanan dan minuman, pertumbuhan mikroorganisme justru dirangsang untuk mengubah komponen-komponen di dalam bahan pangan menjadi produk-produk yang diinginkan.

b. Berperan di dalam peningkatan nilai gizi/nutrisi makanan

Ini terjadi seperti di dalam pembuatan tempe dari kedelai ataupun pembuatan bahan makanan lain seperti oncom, tauco, terasi, bekacem dan sebagainya, yang disamping akan menghasilkan nilai gizi/nutrisi yang jauh lebih baik dan lengkap, juga nilai organoleptik makanan hasilnya akan lebih baik dan meningkat.

c. Berperan di dalam "pengadaan" bau dan rasa

Bau dan rasa kacang kedelai yang langsung direbus, rata-rata kurang menarik kalau dibandingkan dengan kacang kedelai yang telah diproses melalui proses fermentasi. Juga bau dan rasa susu segar, misalnya banyak yang tidak menyukai kalau dibandingkan dengan susu tersebut telah diproses secara fermentasi menjadi yoghurt misalnya.

d. Berperan di dalam "perubahan" warna

Warna, seperti juga bau dan rasa, mempunyai arti yang sangat penting untuk bahan makanan. Warna makanan yang

menarik, akan lebih banyak mendatangkan peminat kalau dibandingkan makanan tersebut tidak mempunyai warna tertentu.

Penggunaan warna pada bahan makanan yang akhir-akhir ini banyak ditentang karena berbentuk warna buatan secara kimia (bahkan ada pula yang menggunakan warna untuk bahan celup tekstil), yang dari beberapa hasil penelitian ada batas tertentu dapat bersifat karsinogenik (menyebabkan terjadinya kanker, terutama pada hati), mulai beralih pada warna yang dihasilkan mikroba. Warna hasil proses mikroba disamping sesuai untuk tubuh, stabil juga aman (tidak ada kecenderungan bersifat karsinogenik)

2. Mendatangkan Kerugian

Dimaksud dengan mendatangkan kerugian, kalau kehadiran mikroba tersebut di dalam bahan makanan, justru akan :

- a. Mengubah bau, rasa dan warna yang tidak dikehendaki
- b. Menurunkan berat atau volume
- c. Menurunkan nilai gizi/nutrisi
- d. Mengubah bentuk dan susunan senyawa.
- e. Menghasilkan toksin (senyawa racun) yang membahayakan.
- f. Menyebabkan penyakit.

Kelompok mikroba seperti bakteri, jamur dan ragi (yang masih termasuk jamur) merupakan penyebab terjadinya kerugian pada bahan makanan seperti diatas. Karenanya terhadap bahan makanan, sejak bahan baku, selama proses, selama pengolahan dan penyimpanan selalu diusahakan untuk tidak dikenai dan ditumbuhi mikroba tersebut. Keberadaan mikroorganisme ini di dalam makanan tidak diinginkan.

Bakteri patogen dapat memproduksi racun atau toksin yang menyebabkan suatu penyakit pada manusia. Berdasarkan toksin yang dihasilkan bakteri, sesuai dengan sifat kimianya dapat dibagi dua golongan yaitu endotoksin dan eksotoksin.

Kerusakan yang paling umum terjadi pada bahan makanan adalah pembusukan, dan ini dapat disebabkan oleh bakteri ataupun jamur. Pada umumnya bahan makanan seperti telur, daging, sayuran dan buah-buahan akan sangat cepat membusuk kalau dibiarkan/disimpan

tanpa aturan sehingga tidak mungkin dikonsumsi. Di lain pihak seringkali makanan yang mengandung enterotoksin dalam jumlah cukup banyak untuk dapat menimbulkan penyakit, biasanya mempunyai penampilan, bau dan rasa yang normal, sehingga masih dikonsumsi dan menimbulkan keracunan bagi konsumen. Cara pencegahan yang terbaik ialah menyimpan semua bahan makanan yang mudah busuk dalam lemari es (suhu 6 sampai 7 C), dimana enterotoksin tidak terbentuk jika makanan disimpan pada temperatur tersebut. Makanan yang sudah dipanasi kembali tidak boleh dibiarkan berjam-jam pada suhu kamar sebelum disajikan.

2.3 SEJARAH MIKROBIOLOGI

1. Antonie Van Leeuwenhoek (1632 – 1723)

Sejarah mikrobiologi dimulai tahun 1674 ketika **Antonie Van Leeuwenhoek** menemukan adanya kehidupan di dalam setetes air danau yang diamati menggunakan lensa gelas. Benda-benda yang disebut "Animalcules" tersebut terlihat dalam berbagai bentuk, ukuran dan warna. Sebelum penemuan tersebut, berlaku teori "Generatio Spontanea" (makhluk hidup dapat terbentuk secara spontan dari benda-benda mati/bahan organik yang telah mengalami pembusukan. **Antonie Van Leeuwenhoek** kemudian mengamati adanya makhluk hidup pada berbagai bahan lainnya menggunakan mikroskop sederhana hasil ciptaannya. Dia menyimpulkan bahwa sel-sel hidup selalu berasal dari benih (*germ*).

2. Francesco Redi (1626 – 1697)

Francesco Redi menentang teori "Generatio Spontanea" dan melakukan percobaan dengan menutup sepotong daging dengan kasa halus untuk mencegah hinggapnya lalat yang dapat bertelur di atasnya. Setelah didiamkan dalam waktu tertentu, ternyata pada daging yang tidak ditutupi banyak ditumbuhi ulat yang berasal dari telur lalat, sedangkan pada daging yang ditutupi tidak terlihat adanya ulat.

3. Lazzaro Spallanzani (1729 – 1799)

Lazzaro Spallanzani menentang teori "*Generatio Spontanea*" dan melakukan percobaan dengan membuat suatu suspensi bahan organik di dalam tabung gelas, kemudian mendidihkannya. Ternyata cairan tersebut tidak rusak atau busuk dan tidak mengandung sel-sel hidup. Sel-sel hanya tumbuh jika tabung dibuka sehingga cairan mengalami kontak dengan udara luar yang merupakan sumber kontaminasi jasad renik.

4. Nicholas Appert (1810)

Nicholas Appert pada tahun 1810 memenangkan hadiah 12.000 franc karena untuk pertama kalinya berhasil mengawetkan berbagai bahan pangan yang mudah rusak menggunakan proses pemanasan di dalam tabung gelas atau botol. Sejak saat itu proses pemanasan dilakukan sebagai salah satu cara untuk mengawetkan makanan.

5. Louis Pasteur (1822 – 1895)

Louis Pasteur sangat menentang teori "*Generatio Spontanea*".dan mengemukakan teorinya "*Omne vivum ex ovo, omne ovum ex vivo*" , yang artinya kehidupan hanya dapat terjadi karena ada kehidupan sebelumnya. Dalam tahun 1860, Pasteur melakukan percobaan menggunakan labu gelas berbentuk bulat yang diisi ekstrak bahan organik atau larutan gula, dimana pada ujung lehernya kemudian dipanaskan dan ditiup sehingga membentuk pipa agak panjang berbentuk huruf U. Setelah labu dipanaskan, ternyata di dalam labu Pasteur tersebut setelah beberapa waktu tidak pernah terlihat adanya pertumbuhan jasad renik. Tetapi jika leher labu dipatahkan dan dibiarkan terbuka dan terkontaminasi oleh udara, dalam satu hari atau lebih akan terlihat adanya pertumbuhan di dalam tabung tersebut sehingga cairan didalamnya menjadi busuk. Ternyata bentuk U dari pipa pada leher labu dapat menahan masuknya jasad renik dari udara ke dalam labu.

Louis Pasteur juga dikenal karena teori yang dikemukakannya dalam fermentasi . Pada tahun 1857 dan 1862, ia menemukan bahwa sel

khamir dapat menyebabkan terjadinya fermentasi pada anggur dan bir dan menemukan bahwa proses pemanasan dapat membunuh khamir yang dapat menyebabkan kerusakan pada minuman tersebut. Dari penemuan ini, kemudian dikenal **proses pasteurisasi** yang diterapkan pada anggur, bir dan produk-produk susu. Pada tahun 1879 – 1880, Pasteur membuktikan bahwa hewan (dalam percobaannya digunakan kambing) dapat diimunisasi terhadap penyakit Anthrax dan pada tahun 1885 memperkenalkan cara pencegahan penyakit *Rabies*.

6. John Tyndall

John Tyndall seorang Inggris, pada tahun 1876, menemukan bahwa pemanasan yang dilakukan oleh **Louis Pasteur** tidak cukup untuk membunuh semua jasad renik di dalam suatu bahan karena beberapa jasad renik diantaranya bersifat sangat tahan panas. Ia menyimpulkan bahwa beberapa bakteri mungkin terdapat dalam salah satu dari dua bentuk yaitu :

1. Bentuk Vegetatif yang tidak tahan panas dan mudah dibunuh dengan mendidihkan
2. Bentuk Endospora yang tahan panas dan tidak mati dengan perebusan.

John Tyndall kemudian mengembangkan suatu cara untuk membunuh endospora yang sangat tahan panas. Caranya adalah dengan pemanasan bahan yang mengandung endospora secara tidak sinambung. Dengan cara ini, setelah pemanasan bahan didiamkan sehingga spora bergemini menjadi sel vegetatif, kemudian dipanaskan lagi untuk membunuh sel vegetatif yang tidak tahan panas tersebutm didiamkan lagi, dipanaskan lagi dan seterusnya sehingga semua endospora terbunuh. Cara ini kemudian disebut proses **Tindalisasi**.

7. Ferdinand Cohn

Ferdinand Cohn seorang Jerman, pada tahun 1876 menemukan adanya endospora dan membuktikan sifat ketahanan panasnya.

8. Robert Koch (1843 - 19 10)

Robert Koch menemukan pemakaian medium padat menggunakan bahan pemadat gelatin untuk mengisolasi suatu jenis jasad renik dari suatu campuran jasad renik. Dalam perkembangannya, untuk memadatkan media pertumbuhan jasad renik kemudian digunakan bahan yang lebih baik yaitu agar-agar yang berasal dari gulma laut yang mempunyai sifat pemadat lebih baik daripada gelatin. Dari hasil penelitian Koch, dikemukakan prinsip-prinsip teori yang dikenal sebagai

“Postulat Koch ”, yaitu :

- a. Jasad renik dapat ditemukan sebagai penyebab suatu. gejala penyakit tertentu.
- b. Jasad renik dapat diisolasi di laboratorium sebagai kultur mumi.
- c. Kultur murni tersebut dapat menimbulkan penyakit dengan gejala spesifik bila diinokulasikan pada hewan sehat yang sensitif.
- d. Dari hewan yang dibuat sakit tersebut jasad renik tersebut. dapat diisolasi kembali .
- e. dengan sifat-sifat seperti jasad renik semula.

Seperti halnya makhluk hidup lainnya, jasad renik memerlukan enersi untuk kelangsungan hidupnya. Enersi diperlukan oleh jasad renik untuk berbagai kegiatan, yaitu : (1) mempertahankan kehidupan sel, (2) pertumbuhan dan berkembang biakan sel, dan (3) untuk pergerakan pada jasad renik yang bersifat motil (dapat bergerak).

2.4 METABOLISME ENERGI

SUMBER ENERGI

Berdasarkan sumber energi yang digunakan, jasad renik dapat dibedakan atas dua grup, yaitu:

1. **Organisme fototrof**, yaitu organisme yang menggunakan sinar matahari untuk menghasilkan enersi. Berdasarkan sumber karbon yang digunakan, organisme fototrof dibedakan lagi sebagai berikut:

Organisme	Sumber	Sumber	Contoh
a. Fotoototrof	Matahari	CO ₂	Tanaman,
b. Fotoheterotrof	Matahari	Senyawa organik	ganggang Ganggang biru-hijau

2. **Organisme kimotrof**, yaitu organisme yang menggunakan senyawa kimia untuk menghasilkan enersi. Berdasarkan sumber karbon yang digunakan, organisme kimotrof dapat dibedakan lagi sebagai berikut:

Organisme	Sumber enersi	Sumber karbon	Contoh
a. Kimoototrof	Senyawa kimia	CO ₂	Bakteri litotrof
b. Kimoheterotrof	Senyawa kimia	Senyawa organik	Hewan, protozoa, fungi, bakteri

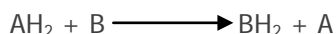
Organisme fotoheterotrof mungkin bersifat obligat atau fakultatif, tergantung pada persediaan sumber enersi. Organisme fotoheterotrof obligat hidupnya sangat tergantung pada sumber enersi dari sinar matahari, sedangkan yang bersifat fakultatif, jika sumber enersi dari matahari sangat berkurang, misalnya dalam keadaan gelap, organisme tersebut dapat berubah sifatnya menjadi kimoheterotrof. Demikian pula organisme kimoototrof, ada yang bersifat obligat atau fakultatif. Organisme kimoototrof obligat hidupnya sangat tergantung pada adanya sumber CO₂, sedangkan yang bersifat fakultatif jika sumber CO₂ sangat berkurang, organisme tersebut akan berubah sifatnya menjadi kimoheterotrof.

Semua reaksi yang menghasilkan enersi pada bakteri yang bersifat kimotrofik merupakan reaksi oksidasi-reduksi, yaitu pemindahan atom hidrogen atau elektron dari satu senyawa ke senyawa lainnya. Untuk dapat digunakan sebagai sumber enersi, harus terjadi reaksi oksidasi reduksi dimana diperlukan persediaan suatu oksigen dan reduktan dalam jumlah berlebih. Oksidasi adalah pelepasan elektron dari suatu atom atau molekul yang bertindak sebagai donor hidrogen

(reduktan), sedangkan reduksi adalah penambahan elektron pada suatu asektor hidrogen (oksidan).



Hasil kedua reaksi tersebut menunjukkan oksidasi senyawa AH_2 oleh senyawa B sebagai berikut :



Dalam hal ini AH_2 adalah suatu reduktan, sedangkan sehyawa B adalah oksidan. Senyawa yang dapat berfungsi sebagai oksidan atau reduktan mungkin berupa senyawa organik atau anorganik. Berdasarkan jenis senyawa yang digunakan sebagai oksidan atau reduktan, maka reaksi oksidasi yang menghasilkan enersi pada jasad renik dapat dibedakan sebagai berikut :

Donor electron	Aseptor electron	
	Anorganik	Organik
Anorganik (litotrof)	Respirasi	Tidak terjadi
Organik (organotrofik)	Respirasi	Fermentasi

Organisme **litotrof** atau **kimolitotrof**, termasuk diantaranya beberapa jenis bakteri, adalah organisme yang memperoleh enersi melalui oksidasi suatu reduktan anorganik, misalnya sulfur atau amonia. Organisme litotrof pada umumnya bersifat ototrof, yaitu mendapatkan sumber karbon dari CO_2 . Organisme yang tergolong **organotrof** mengoksidasi donor hydrogen yang berupa senyawa organik, contohnya pada hewan, fungi dan kebanyakan bakteri. Jadi istilah litotrofik dan organotrofik menunjukkan perbedaan dalam donor elektronnya.

Reaksi respirasi dan fermentasi adalah reaksi yang menunjukkan perbedaan dalam asektor hidrogen (penerima elektron). **Respirasi** adalah reaksi oksidasi yang menggunakan senyawa anorganik sebagai oksidan (penerima elektron) sedangkan fermentasi adalah reaksi oksidasi yang menggunakan senyawa organik baik sebagai oksidan maupun

sebagai reduktan (donor elektron).

Jasad renik yang sering tumbuh pada bahan pangan pada umumnya bersifat kimoorganotrof, dimana sebagai sumber enersi dan sumber karbon digunakan senyawa organik.

RESPIRASI

Berbagai organisme melakukan respirasi menggunakan senyawa anorganik sebagai oksidan, sedangkan sebagai reduktan dapat berupa senyawa organik maupun anorganik (Tabel 1.1). Respirasi yang menggunakan oksigen sebagai penerima elektron disebut respirasi aerobik, sedangkan yang menggunakan senyawa anorganik sebagai penerima elektron disebut respirasi anaerobik.

Respirasi terhadap bahan organik terjadi dalam dua tahap yaitu:

1. Oksidasi substrat menjadi CO_2 dengan cara melepaskan atom hydrogen secara bertahap. Reaksi terse but misalnya yang terjadi dalam siklus Krebs.
2. Oksidasi atom hidrogen yang dilepaskan dalam reaksi tahap pertama oleh oksigen atau senyawa anorganik, membentuk ATP.

Skema proses respirasi terhadap bahan organik, yaitu yang dilakukan oleh organisme yang tergolong organotrof dapat dilihat pada Gambar 1.1.

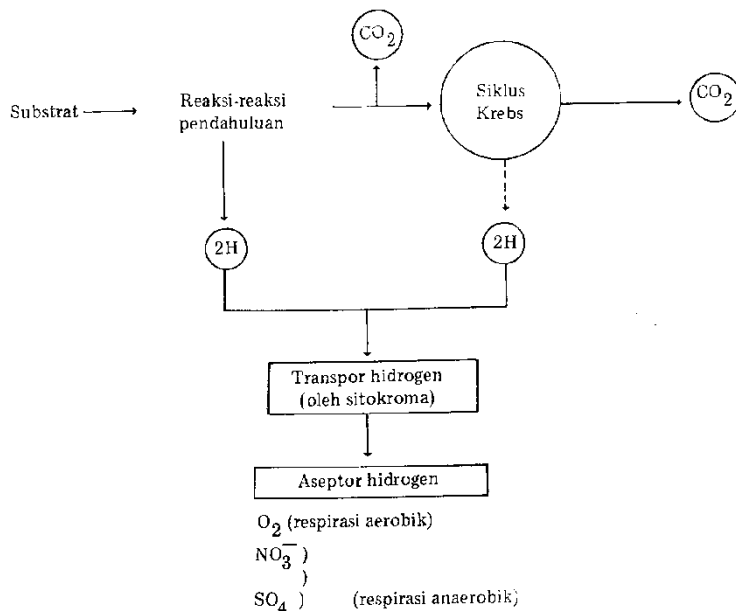
Tabel 2.1. Reduktan dan oksidan yang digunakan dalam respirasi oleh berbagai organisme

Reduktan	Oksidan	Produk (+ enersi)	Organisme
Organotrof : Senyawa organik	O_2	$CO_2 + H_2O$	Kebanyakan bakteri, semua hewan dan tanaman
Senyawa organik	NO_3^-	$N_2 + CO_2$	Bakteri denitrifikasi
Litotrof NO_2^-	O_2	$NO_3^- + H_2O$	Bakteri nitrifikasi (<i>Nitrobacter</i>)
NH_3	O_2	$NO_2^- + H_2O$	Bakteri nitrifikasi (<i>Nitrosomonas</i>)
Fe^{2+}	O_2	Fe^{3+}	Bakteri besi (<i>Ferrobacillus</i>)
S^{2-}	O_2	$SO_4^{2-} + H_2O$	Bakteri sulfur (<i>Thiobacillus</i>)
H_2	O_2	H_2O	Bakteri hydrogen
H_2	SO_4^{2-}	$H_2O + S^{2-}$	<i>Desulfovibrio</i>

Sistrom (1960)

Respirasi Aerobik

Pada respirasi aerobik, oksigen bertindak sebagai aseptor hidrogen, dan reaksi oksigen dengan hidrogen akan membentuk air. Dengan kata lain, respirasi aerobik adalah reaksi oksidasi substrat menjadi CO_2 dan air, membentuk enersi dalam bentuk ATP. Transpor atom hidrogen dari substrat ke oksigen berlangsung melalui sitokroma. Pigmen-pigmen tersebut melakukan reaksi oksidasi-oksidasi, dimana sitokroma yang terakhir akan dioksidasi oleh oksigen membentuk air. Enersi yang dikeluarkan dari reaksi hidrogen dan oksigen digunakan untuk membentuk ATP. Untuk setiap pasang atom hidrogen yang teroksidasi akan terbentuk tiga molekul ATP.



Gambar 2.1. Skema proses respirasi pada organisme organotrof

Respirasi Anaerobik

Beberapa bakteri tidak menggunakan oksigen sebagai oksidan, tetapi menggunakan senyawa anorganik seperti sulfat dan nitrat. Proses demikian disebut **respirasi anaerobik**. Sebagai contoh, bakteri dari jenis **Desulfovibrio** melakukan oksidasi senyawa organik menggunakan sulfat (SO_4^{2-}) sebagai oksidan, dimana sulfat akan mengalami reduksi menjadi sulfide (S_2). Bakteri dari jenis tersebut tidak dapat menggunakan oksigen sebagai aseptor electron.

Bakteri denitrifikasi dapat menggunakan nitrat maupun oksigen dalam respirasi. Bakteri tersebut akan mereduksi nitrat (NO_3^-) hanya jika tidak terdapat oksigen, dimana nitrat akan direduksi menjadi gas nitrogen (N_2), ammonia (NH_3) atau nitrogen oksida (N_2O), tergantung dari jenis bakterinya.

BAB 3

PENANAMAN MIKROBA

3.1 PENDAHULUAN

Satu tujuan setiap bidang ilmiah ialah organisasi dan interpretasi informasi faktual yang ditemukan dalam bidang tersebut. Demikian pula halnya dengan mikrobiologi. Bagaimanakah mengelompokkan banyak macam mikroorganisme itu ke dalam suatu pola, atau sistem teratur, yang mengenali persamaan-persamaan di dalam suatu kelompok dan perbedaan-perbedaan di antara kelompok-kelompok tersebut ? Penelaahan mengenai organisme untuk memantapkan suatu sistem klasifikasi yang mencerminkan dengan sebaik-baiknya semua kesamaannya dan kelainannya itu dinamakan *taksonomi*. Sekali suatu organisme dimasukkan ke dalam suatu kelompok taksonomik, maka menjadi mudah untuk memberikan nama kepadanya. Penamaan mikroorganisme (*nomenklatur*) menyajikan label atau pegangan untuk acuan dan komunikasi yang tidak menyulitkan.

Untuk mengembangkan skema klasifikasi yang memadai, kita harus mengerti sepenuhnya sifat-sifat atau ciri-ciri subjeknya - dalam hal ini mikroorganismenya - yang akan kita klasifikasikan. Dalam bab sebelumnya telah dibahas ciri-ciri utama mikroorganisme. Dalam bab ini akan diperkenalkan klasifikasinya. Sebagai contoh akan dikemukakan skema klasifikasi untuk bakteri; ingatlah bahwa sistem klasifikasi untuk semua mikroorganisme agak serupa.

3.2 KLASIFIKASI MIKROORGANISME

Klasifikasi ialah suatu istilah yang berkaitan dengan dan terkadang digunakan secara dapat dipertukarkan dengan taksonomi. Taksonomi ialah ilmu mengenai klasifikasi atau penataan sistematik organisme ke dalam kelompok atau kategori yang disebut *taksa* (tunggal : *takson*). Akan tetapi, penyusunan taksonomik mikroorganisme mensyaratkan mereka diidentifikasi sebagaimana mestinya dan diberi nama. Kegiatan seluruhnya - pengklasifikasian, penamaan, dan pengidentifikasian - disebut *sistematika mikroba*. Ketiga proses ini sebagaimana dijelaskan berikut ini, amat saling bergantung.

1. ***Taksonomi (klasifikasi)*** : Penataan teratur unit-unit ke dalam kelompok satuan yang lebih besar. Hal ini dapat diibaratkan dengan permainan kartu. Kartu-kartu dapat dipilih mula-mula berdasarkan rupanya; kemudian di dalam setiap rupa, kartu-kartu itu dapat disusun menurut nomor urutnya, dengan kartu yang bergambar muka (raja, ratu dan pangeran) ditempatkan berurutan.
2. ***Nomenklatur*** : Penamaan satuan-satuan yang dicirikan dan dibatasi oleh klasifikasi. Dapat digunakan analogi yang sama. Kartu-kartu yang bergambar muka diberi nama dan mungkin bahkan lebih dari satu nama. Misalnya, "jack" atau "knave" menunjukkan kartu yang sama. Untunglah, nomenklatur ilmiah dalam semua bahasa itu sama.
3. ***Identifikasi*** : Penggunaan kriteria yang ditetapkan untuk klasifikasi dan nomenklatur tersebut di atas untuk mengidentifikasi mikroorganisme dengan membanding-bandingkan ciri-ciri yang ada pada satuan yang belum diketahui dengan satuan-satuan yang sudah dikenal. Identifikasi mikroorganisme yang baru diisolasi memerlukan pencirian, deskripsi, dan perbandingan yang cukup, dengan deskripsi yang telah dipublikasikan untuk jasad-jasad renik lain yang serupa.

Sebagaimana telah dikemukakan sebelumnya, maksud sistem klasifikasi ialah mengelompokkan organisme sedemikian hingga mencerminkan semua kesamaan maupun kelainannya. Dari klasifikasi

maka ditentukanlah kriteria yang perlu untuk identifikasi mikroorganisme. Klasifikasi juga memberikan suatu cara untuk menentukan kekerabatan evolusioner di antara kelompok-kelompok jasad renik dan untuk memilih mikroorganisme yang mungkin memiliki ciri-ciri atau kemampuan yang menarik perhatian secara khusus, misalnya menghasilkan antibiotik.

Sebelum tahun 1700, organisme yang dapat tampak dengan mata bugil diklasifikasikan sebagai tumbuhan atau binatang saja. Praktek ini diterima para ahli biologi sebagai dasar pemisahan dunia hidup menjadi dua dunia, *Animalia* dan *Plantae*. Dalam tahun 1750-an kedua dunia itu dibagi lagi menjadi pengelompokan yang dapat diidentifikasi dan yang berkerabat oleh Carolus Linnaeus, seorang naturalis dari Swedia. Suatu ciri yang amat penting pada skema Linnaeus ini masih digunakan sampai kini yaitu *nomenklatur sistem biner* (dua bagian). Mengenai penamaan ini akan dibahas lebih lanjut kemudian.

Sistem klasifikasi biasanya dikembangkan melalui kerja sama internasional di antara para ilmuwan. Dengan menggunakan skema Linnaeus ini, dikembangkan sistem-sistem klasifikasi bagi dunia tumbuhan oleh para botaniwan dan untuk dunia binatang oleh para zoologiwan. Algae dan fungi dimasukkan ke dalam dunia tumbuhan dan protozoa ke dalam dunia binatang. Banyak sistem klasifikasi bakteri dikembangkan dengan model-model yang didasarkan pada skema-skema yang lebih tua ini. Dalam dasawarsa terakhir ini diusulkan skema klasifikasi untuk virus karena pada waktu itu telah terkumpul cukup data untuk menjadi dasar skema klasifikasi seperti itu.

3.3 KONSEP MENGENAI SPESIES

Satuan atau kelompok dasar dalam semua sistem klasifikasi organisme, termasuk mikroorganisme, ialah *spesies*. Istilah ini sering dipakai - tetapi terlampau sering dengan perasaan autoritas yang tak dapat dibenarkan. Yang benar ialah bahwa konsepsi spesies itu agak dibuat-buat dan tidak didefinisikan secara tepat, demikian pula hal itu biasanya bersifat subjektif (didasarkan pada pertimbangan individu) dalam bidang mikrobiologi. Pada umumnya, spesies didefinisikan sebagai suatu kelompok individu yang berkerabat dekat yang (1) dapat

dibedakan dari individu-individu kelompok lain yang serupa dan (2) semuanya dapat saling dipertangkarkan ("interbreeding") dengan anggota-anggota lain dalam kelompok tersebut. Patokan untuk saling penangkaran itu dapat dengan mudah dan secara rutin diterapkan pada mikroorganisme, terutama bakteri. Jadi bagian terakhir definisi yang disebut di atas itu tidak sesuai, dan kita harus kembali pada penaksiran yang terdidik atau didasarkan pengalaman oleh seorang peneliti tentang seberapa banyak persamaan sekelompok mikroorganisme seharusnya agar dapat disebut spesies. Maka hal ini merupakan keputusan subjektif yang diambil oleh mikrobiolog. Dengan demikian, semakin lengkap pencirian suatu mikroorganisme, semakin baik pula pertimbangan mengenai apa yang menjadikan suatu spesies.

3.4 KATEGORI TAKSONOMI

Sistem klasifikasi biologi didasarkan pada hierarki taksonomi atau penataan kelompok atau kategori yang menempatkan spesies pada satu ujung dan dunia di ujung lainnya dalam urutan sebagai berikut :

- Spesies* : Sekelompok organisme berkerabat dekat (untuk tujuan kita jasad renik) yang individu-individunya di dalam kelompok itu serupa dalam sebagian terbesar ciri-cirinya.
- Genus* : Sekelompok spesies yang serupa.
- Famili* : Sekelompok genus yang serupa.
- Ordo* : Sekelompok famili yang serupa.
- Kelas* : Sekelompok ordo yang serupa.
- Filum* atau divisi : Sekelompok kelas yang berkerabat.
- Dunia* : Seluruh organisme di dalam hierarki ini.

Penataan spesies ke dalam sistem klasifikasi - misalnya, spesies → genus → famili → ordo → kelas → filum atau divisi - mungkin tampaknya relatif mudah dan tidak meragukan. Tidakkah demikian, seberapa jauhkah keserupaan spesies itu seharusnya jika akan dimasukkan ke dalam genus yang sama ? Apa batas-batas bagi setiap

genus khusus, atau famili, atau ordo ? Pertanyaan-pertanyaan ini tidak dapat dijawab secara mutlak. Tambahan pula, taksa yang berlainan tidak selamanya sama bergunanya. Misalnya, dewan penyunting *Bergey's Manual* edisi ke 8 berkesimpulan bahwa "bagi sebagian besar kelompok bakteri, genus dan spesies merupakan satu-satunya kategori yang kini dapat dikenali (diterima) dan didefinisikan dengan ketepatan yang memadai". Cara bertumpang tindihnya sifat-sifat bakteri di antara spesies menghalangi penentuan batas-batas tajam bagi demarkasi di antara kelompok-kelompok taksonomik.

Kategori spesies merupakan kelompok terpenting dalam skema klasifikasi ini. Hal itu memberikan landasan bagi seluruh struktur hierarki tersebut.

3.5 PENAMAAN MIKROORGANISME-NOMENKLATUR SISTEM BINER

Mikroorganisme, sebagaimana bentuk-bentuk kehidupan yang lain, diberi nama menurut *nomenklatur sistem biner* (Tabel 2-1). Tujuan utama suatu nama ialah memberi cara pengacuan suatu mikroorganisme, dan bukanlah untuk memeriksanya. Setiap organisme ditandakan dengan nama genus dan istilah biasa atau deskriptif yang disebut epitet spesies, keduanya itu bahasa Latin atau dilatinkan. Nama genus selalu ditulis dengan huruf besar; epitet spesies selalu dengan huruf kecil. Kedua komponen tersebut bersama-sama disebut nama ilmiah (genus dan epitet spesies) dan selalu dicetak miring - misalnya *Neisseria gonorrhoeae*, bakteri yang menyebabkan penyakit gonorea.

Tabel 3.1. Contoh untuk nama-nama taksonomi sebagaimana di terapkan bagi spesies dalam dunia hewan, tumbuhan, dan mikroba

TAKSA	CONTOH TAKSA			
	Singa*	Dandelion*	Amoeba*	Basil Tuberkel*
Dunia	Animalia	Plantae	<i>Prostita</i>	Procaryotae
Filum (atau divisi)	Chordate	Traceophyta	<i>Sarcodina</i>	Bacteria
Kelas	Mammalian	Angiospermae	<i>Rhizopoda</i>	
Ordo	Carnivore	Campanulales	<i>Amoebida</i>	Actinohomycetes
Famili	Felidae	Compositae	<i>Amoebidae</i>	Mycobacteriaceat
Genus	Felis	Taraxacum	<i>Amoeba</i>	Myobacteriaceae
Spesies	F. leo	<i>T. Pfficinale</i>	<i>A. proteus</i>	M. tuberculosis

* Nama biasa / umum

a. Kode (Sandi) Nomenklatur

Agar memperoleh penamaan yang konsisten dan seragam bagi organisme, telah ditentukan peraturan yang diterima secara internasional untuk penamaan organisme dan diikuti oleh para biologiwan di semua negara. Peraturan seperti itu untuk tumbuhan dan hewan ditetapkan pada awal tahun 1900 oleh para ahli botani dan zoologi. Sandi internasional untuk, Nomenklatur Zoologi untuk pertama kali diterbitkan da1am tahun 1901; Sandi Internasional bagi Nomenklatur Botani untuk pertama kali terbit pada tahun 1906. Dalam tahun 1947 Gabungan Intemasional Perhimpunan Mikrobiologi memakai Sandi Internasional untuk Bakteri dan Virus. Sandi itu, kini dikena1 dengan Kode Intemasional Nomenklatur Bakteri, secara sinambung dimodifikasi dalam suatu usaha untuk memperbaiki dan menjelaskan peraturan dan pengaturannya. Edisi yang paling mutakhir diterbitkan dalam tahun 1975.

b. Prinsip Nomenklatur

Sandi-sandi dalam zoologi, botani, dan bakteriologi didasarkan pada beberapa prinsip yang umum. Beberapa di antaranya yang paling penting ialah:

1. Setiap macam organisme yang nyata disebut sebagai spesies.
2. Spesies ditandai dengan kombinasi biner Latin, maksudnya untuk memberinya label yang seragam dan dipahami secara internasional.

3. Nomenklatur organisme diatur oleh organisasi pengawas internasional yang sesuai - dalam hal bakteri, "*The International Association of Microbiological Societies*".
4. Hukum prioritas menjamin penggunaan nama sah tertua yang tersedia bagi suatu organisme. Hal ini berarti bahwa nama yang pertama-tama diberikan kepada mikroorganisme itulah nama yang benar, asalkan mengikuti prosedur yang semestinya.
5. Penunjukan kategori diperlukan untuk klasifikasi organisme.
6. Kriteria ditetapkan untuk pembentukan dan publikasi nama-nama yang baru.

c. Nama Ilmiah dan Nama Umum

Nama ilmiah bagi organisme dibentuk sesuai dengan peraturan nomenklatur sistem biner sebagaimana telah dikemukakan sebelumnya. Organisme yang telah kita kenal dan acapkali kita sebut-sebut biasanya mempunyai nama umum. Beberapa contoh organisme yang kerap kali disebut-sebut dengan nama umumnya itu terdaftar di bawah ini, bersama-sama dengan nama ilmiahnya. (Dalam banyak hal nama umum digunakan sebelum diberikan nama ilmiahnya).

NAMA UMUM	NAMA ILMIAH
Anjing	<i>Canis familiaris</i>
Lalat rumah	<i>Musca domestica</i>
Oak putih	<i>Quercus alba</i>
Kapang roti	<i>Neurospora crassa</i>
Gonokokus	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Basil tuberkulosa	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>

Keuntungan menggunakan nama-nama umum ialah kemudahannya dan komunikasi yang lebih efektif antara dokter dan pasiennya. Sebagai contoh, pada percakapan di laboratorium atau dengan orang awam maka lebih mudah untuk menyebut agen penyebab penyakit TBC sebagai "basil tuberkulosa" dan bukannya *Mycobacterium tuberculosis*. Nama umum terkadang diturunkan dari nama genus, misalnya pseudomonad dari *Pseudomonas*.

3.6 PERKEMBANGAN MUTAKHIR DALAM TAKSONOMI MIKROBA

Taksonomi mikroba bukanlah subjek yang statis. Skema klasifikasi terus-menerus berubah secara perlahan karena diperoleh lebih banyak informasi dan karena dikembangkan berbagai metode untuk menafsirkan data. Dua perkembangan yang relatif baru telah muncul untuk digunakan dalam taksonomi mikroba yang dalam berbagai cara akan membuat keputusan-keputusan yang lebih objektif. Salah satu di antaranya ialah taksonomi numeris, dan yang lainnya ialah taksonomi genetik.

a. Taksonomi Numeris

Taksonomi numeris, yang juga dinamakan *taksonomi komputer*, didasarkan pada asas-asas yang dipublikasikan bertahun-tahun yang lalu dan barulah belakangan ini diterapkan bagi taksonomi mikroba. Taksonomi numeris mensyaratkan tersedianya sejumlah besar informasi mengenai mikroorganisme yang bersangkutan sebanyak mungkin informasi mengenai ciri-ciri yang tidak berkaitan yang mungkin diperoleh. Setiap ciri diberi bobot yang sama dalam membentuk taksa. Kesamaan menyeluruh didasarkan pada proporsi ciri-ciri yang dimiliki bersama. Dalam praktek mikrobiologiwan menghimpun data untuk setiap biakan. Dengan menggunakan komputer maka data setiap biakan itu dibandingkan dengan data setiap biakan yang lain. (Diperlukan bantuan suatu komputer berkecepatan tinggi karena kalau tidak maka ribuan perbandingan ciri-ciri yang beragam itu akan memakan waktu yang terlampau lama). Hasil akhirnya ialah bahwa ahli mikrobiologi itu dapat menghitung dengan angka, derajat kesamaan setiap biakan terhadap setiap biakan yang lain. Taksa ditetapkan berdasarkan derajat kesamaan yang disetujui. Taksonomi numeris memberi dua keuntungan. Pertama, dapat dibuat objektif : prasangka (bias) taksonomiwan tidak terbawa di dalam prosedur, sehingga hasilnya (jika prosedurnya diterapkan dengan benar) tidak terbuka untuk dipertentangkan. Keuntungan besar yang lainnya taksonomi numeris itu ialah bahwa hasil penemuannya dapat diulang-ulang: taksonomiwan yang lain yang mengikuti prosedur yang

sama dengan data yang sama akan memperoleh hasil yang sama pula.

b. Taksonomi Genetik

Sebagaimana sudah banyak diketahui mengenai bahan genetik bakteri, yaitu DNA. Dengan prosedur laboratorium yang telah tersedia, orang dapat menentukan komposisi basa (kandungan guanin plus sitosin. atau GS) DNA suatu mikroorganisme tertentu dan kemudian membandingkannya dengan komposisi basa DNA pada mikroorganisme lainnya, Derajat kekerabatan atau kesamaan DNA pada berbagai mikroorganisme dapat ditentukan pula dengan percobaan hibridisasi. Dalam teknik ini utasan tunggal DNA mikroorganisme dipertemukan dengan utasan tunggal DNA mikroorganisme yang lain, Derajat penyatuan kembali utasan-utasan tunggal ini mencerminkan derajat kesamaannya.

c. Perubahan Konsepsi Taksonomi

Sekali mikroorganisme ditetapkan tempatnya dalam sistem taksonomi, apakah keputusan itu mutlak ? Tidak. Skema klasifikasi dalam mikrobiologi secara berkala dimodifikasi; penataan taksonomik yang terdahulu menghasilkan yang lebih baik karena didasarkan pada pengetahuan yang lebih baru. Contoh-contoh berikut ini menggambarkan sifat beberapa perubahan yang telah terjadi.

Tabel 3.2. Jumlah spesies beberapa bakteri berdasar tahun Edisi

Bergey's Manual

EDISI BERGEY'S MANUAL KE		JUMLAH SPESIES PADA GENUS TERPILIH				
		<i>Bacillus</i>	<i>Actino myces</i>	<i>Pseudo monas</i>	<i>Echerichia</i>	<i>Srepto myces</i>
1	1923	75	64	20	22	0
2	1925	75	64	20	22	0
3	1930	93	70	31	29	0
4	1934	93	70	31	22	0
5	1939	34	62	31	2	0
6	1947	33	2	148	3	73
7	1957	25	3	149	4	149
8	1974	22	5	29	1	415

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, edisi ke-8 (1974) merupakan sumber informasi yang secara umum diterima bagi taksonomi bakteri. Masing-masing dari delapan edisi itu, diterbitkan sejak tahun 1923. memasukkan berbagai jumlah spesies untuk berbagai genus. Beberapa contoh, disajikan pada Tabel 3-2. menunjukkan adanya perubahan besar dengan berjalannya waktu dalam jumlah spesies yang dimasukkan ke dalam genera ini. Mengapa ? Berbagai alasan dapat dikemukakan. Beberapa ahli mikrobiologi yang bekerja dalam bidang taksonomi disebut sebagai "pemecah": mereka menetapkan spesies-spesies baru berdasarkan perbedaan-perbedaan yang kecil saja di antara kelompok yang berkerabat. Mikrobiologi yang lain yang menekuni taksonomi dinamakan "pemersatu"; mereka tidak menganggap perbedaan-perbedaan kecil itu cukup untuk mendirikan spesies-spesies yang baru.

Alasan lain untuk perubahan-perubahan ini berkaitan dengan terkumpulnya informasi baru mengenai mikroorganisme. Informasi baru itu dapat memberikan bukti yang lebih baik untuk memastikan spesies baru, meniadakan beberapa spesies, atau kedua-duanya. Alasan yang lain lagi, ialah meningkatnya perhatian terhadap sekelompok mikroorganisme tertentu. Lihat lagi Tabel 3-2 dan perhatikan apa yang terjadi pada genus *Streptomyces*. "Ledakan" spesies baru ini muncul karena penemuan dalam tahun 1940-an yaitu spesies-spesies *Streptomyces*. menghasilkan antibiotik. Penemuan ini mengawali pencarian utama mikroorganisme ini di seluruh dunia dengan harapan menemukan penghasil antibiotik yang baru dan yang lebih baik.

Penyusutan jumlah spesies di dalam genus tampak pada *Escherichia* (Tabel 3-2). Empat edisi yang pertama *Bergey's Manual* mencatat lebih dari 20 spesies; edisi yang kedelapan hanya mencantumkan satu. Hal ini mencerminkan perubahan dalam penilaian ciri-ciri yang membenarkan dipecahnya suatu kelompok menjadi beberapa spesies.

3.7 RINGKASAN DAN PROSPEK

Klasifikasi mikroba mempunyai sejarah yang panjang dan selama itu telah diusulkan banyak sistem taksonomi. Suatu sistem taksonomi mikroba yang baik memang sangat penting untuk keteraturan ilmu pengetahuan mikrobiologi. Ilmu pengetahuan bukanlah semata-mata suatu koleksi rupa-rupa fakta; melainkan merupakan organisasi dan interpretasi fakta-fakta ini ke dalam suatu sistem yang menampilkan hubungan di antara berbagai kategori. Demikian pula dengan taksonomi mikroba. Suatu sistem taksonomi yang baik harus mengurangi kesimpangsiuran dan menciptakan keteraturan. Dari sudut yang sangat praktis, skema klasifikasi menyajikan suatu cara untuk mempelajari secara serentak ciri-ciri utama banyak spesies dengan cara mempelajari ciri genus masing-masing. Sebagai contoh, *Bergey's Manual* (1974) menggambarkan 48 spesies dalam genus *Bacillus* dan 61 spesies dalam genus *Clostridium*. Kedua genus tersebut tergolong ke dalam famili Bacillaceae. Bila anda mengetahui kriteria yang menjadi dasar takson ini, maka pada waktu yang bersamaan anda juga akan mengetahui beberapa dari ciri-ciri utama 109 spesies bakteri.

Taksonomi mikroba merupakan suatu bidang yang dinamis dan tidak statis. Mikroorganisme baru terus-menerus ditemukan dan tersedia pengetahuan baru mengenai mikroorganisme yang telah diklasifikasikan. Informasi baru yang paling dapat diharapkan yang sedang diusahakan menjadi tersedia datang dari analisis DNA sel mikroba. Informasi ini sangat penting dan berharga untuk menentukan keabsahan kelompok-kelompok takson. Di samping itu, penggunaan taksonomi numeris atau komputer yang semakin meningkat akan memberikan objektivitas yang lebih besar dalam pemantapan kelompok-kelompok taksonomi.

BAB 4

KLASIFIKASI MIKROORGANISME

4.1 PENDAHULUAN

Makhluk hidup dapat dibedakan atas tiga katagori yaitu : (1) Tanaman, (2) Hewan, dan (3) Protista. Pada tanaman dan hewan, setiap sel tidak dapat berfungsi secara terpisah tetapi merupakan unit terkecil dari suatu organisme multiseluler.

PROTISTA

Semua makhluk hidup yang tidak tergolong hewan/tanaman yang dibedakan atas dua kelompok :

1. Protista tingkat rendah (Prokariot) :

- Bakteri
- Rickettsia dan Chlamydia
- Mikoplasma
- Ganggang biru-hijau

2. Protista tingkat tinggi (Eukariot) :

- Fungi (kapang, khamir, jamur)
- Ganggang
- Protozoa

Ganggang mempunyai sifat-sifat lebih menyerupai tanaman, sedangkan Protozoa mempunyai sifat-sifat lebih menyerupai hewan. Perbedaan sifat-sifat sel tanaman, hewan dan Protista dapat dilihat pada Tabel 3.1.

VIRUS

- o Tidak digolongkan ke dalam salah satu kelompok di atas karena tidak mempunyai ciri-ciri "sel".
- o Merupakan struktur yang berstatis, stabil, tidak dapat melakukan metabolisme maupun biosintesa.
- o Virus baru dapat dikatakan sebagai "Makhluk hidup" jika terdapat di dalam sel organisme lainnya, karena sel organisme inang tersebut yang melakukan proses metabolisme yang diperlukan virus untuk memperbanyak diri. Dalam keadaan inilah virus digolongkan dalam kelompok "Protista"

Tabel 4.1. Perbedaan ciri-ciri sel tanaman, hewan dan protista

Ciri-ciri	Tanaman	Hewan	Protista
Ciri Sel : <ul style="list-style-type: none"> - Jenis Sel - Organisasi Sel - Dinding Sel - Inti sejati - Klorofil 	Eukariotik Multiseluler + ** + +	Eukariotik Multiseluler – ** – –	Eukariotik & Prokariotik Uniseluler soenositik * Miselia tanpa pembagian sel dan tunas + atau – (mikoplasma) + atau – + atau –
Sifat Fisiologi: <ul style="list-style-type: none"> - Sumber energi - Senyawa cadangan - Cara menyerap makanan - Pegerakan 	Matahari Pati Pasif Pasif	Senyawa Organik Glikogen lemak Aktif Aktif	Matahari, senyawa organik Pati, glikogen, lemak Pasif dan aktif Pasif dan aktif

*Soenositik : pertumbuhan sitoplasma tanpa mengalami pembelahan sel dan pembentukan sekat mengandung banyak inti sel

** + , ada ; - , tidak ada

Jasad renik yang penting dalam mikrobiologi pangan adalah yang tergolong dalam bakteri, kapang dan khamir.

4.2 PERBEDAAN SEL PROKARIOT DAN EUKARIOT

Perbedaan yang penting antara sel prokariot dan eukariot adalah pada struktur inti selnya. Kata **eukariot** berasal dari kata Latin “**eu**” yang berarti **sejati**, dan “**karyo**” yaitu **keseluruhan inti sel**. Oleh karena itu, sel yang tergolong eukariot mempunyai inti sel (nukleus) sejati, yaitu suatu struktur yang dikelilingi oleh membran inti dimana di dalamnya terdapat kromosom yang mengandung komponen keturunan. Sebaliknya, sel prokariot tidak mempunyai inti sejati, dan komponen keturunannya terdapat di dalam molekul DNA tunggal atau kromosom yang letaknya bebas di dalam sitoplasma. Perbedaan ciri-ciri antara sel prokariot dan eukariot dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 4.2. Perbedaan ciri-ciri antara sel prokariot dan eukariot

Ciri-ciri	Prokariot	Eukariot
Ukuran sel Diameter	0,2 – 5 µm	2 – 100 µm
Struktur Genetik <ul style="list-style-type: none"> • Membran inti yang mengelilingi nukleoplasma • Jumlah kromosom • Nukleolus (inti sel) • Pembelahan inti secara mitosis • Protein (histon) terikat pada kromosom 	– * 1 – – –	+ * 1 + + +
Struktur Sitoplasma <ul style="list-style-type: none"> • Retikulum endoplasma • Mitokondria • Badan Golgi • Lisosoma • Ribosoma: - sitoplasma - membran (organel) • Gerakan sitoplasma • Membran yang mengandung pigmen fotosintesis • Dinding sel yang mengandung peptidoglikan 	– – – – 70 S** – – Kromatofora + ***	+ + + + 80 S 70 S + Kloroplas –

* – tidak ada ; + ada

* unit Svedberg

*** kecuali mikoplasma yang tidak mempunyai dinding sel

Jasad renik yang tergolong prokariot dapat dibedakan atas beberapa group dengan ciri-ciri sebagai berikut :

1. Bakteri

- Bakteri sejati :
 - Dinding sel tegar, uniseluler, memperbanyak diri dengan pembelahan biner, beberapa dapat bergerak menggunakan flagella
 - Memperbanyak diri dengan pembelahan biner
 - Beberapa dapat bergerak menggunakan flagela
- Bakteri bertunas :
 - Bentuknya bervariasi
- Bakteri Miselia :
 - Kadang-kadang bentuknya seperti kapang
- Bakteri berselubung :
 - Masing-masing sel terdapat di dalam selubung (*sheath*) yang terdiri dari kompleks lipoprotein-polisakarida
- Bakteri meluncur :
 - Mempunyai dinding sel yang lemas (gliding)
- Spirochet :
 - Sel berbentuk pilin dengan dinding sel lemas, bergerak dengan serabut poros.

2. Rickettsia dan Chlamydia

Berukuran lebih kecil daripada bakteri (0,2 – 0,5 mm), bersifat parasit intraseluler obligat, mempunyai sifat-sifat dengan bakteri dalam beberapa hal yaitu :

- a. Mengandung DNA dan RNA
- b. Memperbanyak diri dengan pembelahan biner
- c. Mengandung asam muramat
- d. Sensitif terhadap senyawa antibakteri

3. Mycoplasma

Bersifat pleomorfik (dapat berubah bentuk), tidak mempunyai dinding sel, kebanyakan bersifat parasit, merupakan jasad renik bebas

berukuran paling kecil, sitoplasma mengandung sterol disebut juga PPLO (pleuro-pneumonia-like organisme), tahan terhadap Penicillin.

4. Ganggang biru-hijau

Dinding sel lemas sehingga sel dapat meluncur, mendapatkan energi dengan cara fotosintesis, memperbanyak diri terutama dengan pembelahan biner.

Susunan sel protista tdd. beberapa struktur yang dibedakan dalam 2 kelompok :

- a. **Struktur tetap**, yang dipunyai oleh semua sel dan penting untuk kelangsungan hidupnya, misalnya membran sitoplasma, DNA dan ribosoma
- b. **Struktur tidak tetap, yang** dipunyai oleh beberapa sel dan mungkin mempunyai fungsi tertentu, misalnya flagela, pili/silia, kapsul, lapisan lendir, beberapa organ sel, vakuola gas dan spora.

Jasad renik yang tergolong eukariot dapat dibedakan atas beberapa grup dengan ciri-ciri spesifik sebagai berikut :

1. Fungi

- Bersifat osmotrofik (menyerap hara)
- Tidak melakukan fotodintesis
- Reproduksi secara seksual dan aseksual
- Dinding sel mengandung sterol dan kitin
- Terdiri dari : – Khamir (uniseluler)
– Kapang (soenositik / membentuk miselia)
– Jamur (mushroom)

2. Ganggang

- Mengandung pigmen fotosintesis dan melakukan fotosintesis
- Bersifat osmotropik, uniseluler sampai multiseluler

3. Protozoa

- Bersifat pagotropik (menggambil hara dengan cara menelan menggunakan bagian sitoplasmanya)
- Kebanyakan tidak melakukan fotosintesis
- Uniseluler, bergerak menggunakan silia, flagela atau pergerakan sitoplasma

4.3 MEMBRAN SITOPLASMA

- Terletak : diantara sitoplasma dan dinding sel
- Ketebalan : $\pm 75 \text{ \AA}$ ($0,0075 \mu\text{m}$)
- Susunan dasar sama antara sel prokariot dan eukariot yaitu terdiri dari fosfolipid dan protein, sehingga membentuk membran berlapis ganda yang mengandung grup hidrofobik dan grup hidrofilik atau ionik.
- Perbedaan antara membran sitoplasma pada sel prokariot dan eukariot adalah dalam hal jenis fosfolipid & protein yang menyusun membran. Membran eukariot mengandung sterol, sedangkan membran prokariot tidak mengandung sterol kecuali mikoplasma.
- Fungsi sterol pada membran sitoplasma diduga mempengaruhi stabilitas membran. Beberapa antibiotik yang dapat bereaksi dengan sterol bersifat aktif terhadap sel eukariotik, tetapi tidak terhadap sel prokariotik.
- Pada sel prokariotik yang tidak mengandung sterol, komposisi membran kira-kira terdiri dari 60 % protein dan 40 % fosfolipid.
- Membran sitoplasma mempunyai pori-pori yang dapat terbuka dan tertutup karena ada group asam lemak pada fosfolipid
- Membran mempunyai mekanisme spesifik untuk keluar masuknya unsur hara dari dan ke dalam sel.

Sifat – sifat membran sitoplasma :

1. Bersifat **semipermeabel** yaitu mempunyai permeabilitas spesifik. Didalam membran sitoplasma terdapat **enzim permease** yang menyebabkan senyawa – senyawa tertentu. dapat masuk ke dalam sel.

Ciri-ciri enzim permease :

- a. Penyerapan zat hara mengikuti pola enzim kinetik, yaitu bila konsentrasi suatu senyawa di dalam sel telah mempunyai tingkat maksimum, senyawa tersebut tidak akan diserap lagi oleh sel.
 - b. Bersifat **stereospesifik**, misalnya hanya dapat menyerap L asam amino tetapi tidak menyerap D asam amino
 - c. Mutasi pada enzim permease dapat mengakibatkan sel tidak dapat menyerap senyawa tertentu.
 - d. Bersifat **terinduksi**, misalnya jika jasad renik ditumbuhkan pada medium yang mengandung glukosa dan laktosa, akan terjadi penyerapan glukosa tetapi tidak laktosa, tetapi jika sumber glukosa telah habis, enzim permease untuk penyerapan laktosa yaitu **betagalaktosida permease** akan terinduksi.
2. Berfungsi dalam **mengeluarkan hasil sisa metabolisme** dan dalam **sintesa dinding sel**.
 3. Pada sel prokariot, membran sitoplasma merupakan tempat berlangsungnya **proses respirasi** karena enzim untuk respirasi terdapat di dalam membran, pada sel eukariot terdapat dalam mitokondria.
 4. Membran sitoplasma, mengandung enzim-enzim untuk degradasi makanan
 5. Pada sel prokariot, membran sitoplasma mempunyai suatu sisi tempat mengaitnya DNA dan pertumbuhan membran merupakan suatu mekanisme untuk memisahkan DNA setelah berlangsungnya proses replikasi.
 6. Komponen – komponen asam-asam lemak yang menyusun lipid membran :
 - Pada sel Eukariot , terdiri dari asam lemak tidak jenuh
 - Pada sel Prokariot, terdiri dari asam lemak jenuh atau yang mengandung satu ikatan rangkap.

Konsentrasi solut di dalam sel jasad renik kira-kira 10 milimolar atau setara dengan 0,85 % NaCl (larutan fisiologi). Sel akan tetap stabil jika ditempatkan didalam larutan yang bersifat **isotonik**. Jika sel jasad renik ditempatkan didalam larutan hipertonik (larutan garam atau gula konsentrasi tinggi), sel berkerut karena airnya terserap keluar, sehingga membran sel mungkin menjadi terpisah dari dinding sel. Hal ini digunakan sebagai prinsip pengawetan pangan dengan garam dan gula. Di dalam air murni (larutan hipotonik), sel akan menyerap air dan membengkak, dan dapat mengakibatkan sel menjadi pecah. Sifat-sifat permeabilitas membran dapat terganggu oleh beberapa antibiotik.

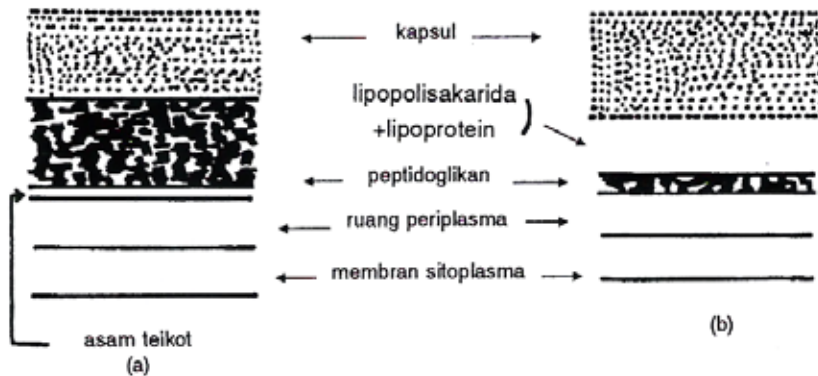
4.4. DINDING SEL

1. SEL PROKARIOT

- Hampir semua mempunyai dinding sel kecuali mikoplasma
- Dinding sel Prokariot terdapat lapisan peptidoglikan, yaitu suatu struktur rantai yang terdiri dari turunan – turunan gula yaitu:
 - N-asetil glukosamin (G)
 - Asam N-asetilmuramat (M)
 - Beberapa asamamino yaitu **L-alanin, D-alanin, asam D-glutamat, lisin atau asam diaminopimelat (ADP)**
- Lapisan peptidoglikan tdd. unit-unit glikan tetrapeptida yang membentuk suatu polimer yang disebut juga mukokompleks
- Struktur peptidoglikan hanya terdapat pada sel prokariot.

Dua group bakteri prokariot telah dikenal berdasarkan susunan dinding selnya yaitu:

- a. Bakteri gram positif
- b. Bakteri gram negative



Gambar 4.1. Lapisan dinding sel pada : (a) bakteri gram positif dan (b) bakteri gram negatif (Nester et al, 1973)

a. Bakteri Gram Positif

- 90 % dinding selnya terdiri dari lapisan peptidoglikan
- Lapisan tipis lainnya adalah asam teikoat
- Asam teikoat mengandung unit-unit gliserol atau ribitol yang terikat satu sama lain oleh ester fosfat, dan biasanya mengandung gula lain dan D- alanin. Karena asam teikoat bermuatan negatif, lapisan ini juga mempengaruhi muatan negatif pada permukaan sel.

b. Bakteri Gram Negatif

- 5 – 20 % dinding selnya tdd. Lapisan peptidoglikan
- Lapisan lain terdiri dari : protein, lipolisakarida dan lipoprotein

Perbedaan susunan dinding sel bakteri gram positif dan gram negatif mengakibatkan perbedaan sifat-sifat pewarnaannya, seperti yang dilakukan oleh Cristian Gram (1884) yang menemukan tehnik pengecatan Gram (Tabel 3.3).

Tabel 4.3. Urutan pewarnaan gram serta reaksi yang terjadi dan warna yang terbentuk.

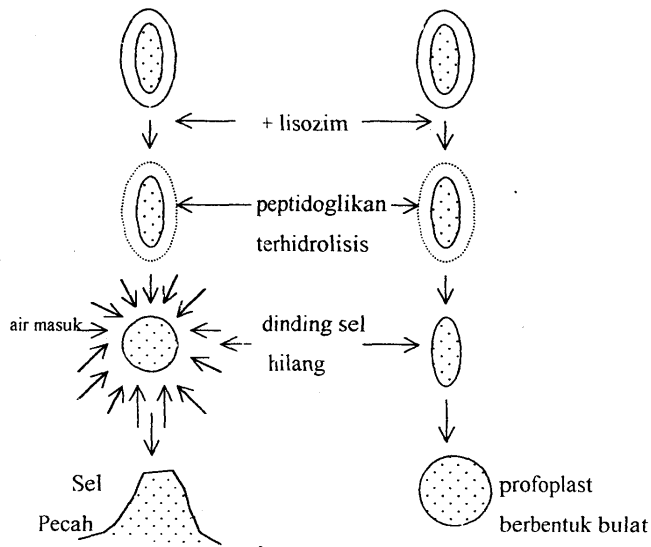
Urutan Pewarnaan	Reaksi dan Warna Bakteri	
	Gram positif	Gram negatif
1. Violet kristal (VK), 1 menit	Sel berwarna violet biru	Sel berwarna violet biru
2. Larutan iodium (I), 1 menit	Terbentuk kompleks VK-1, sel berwarna violet biru	Terbentuk kompleks VK-1. Sel berwarna violet biru
3. Pencucian dengan alkohol	Lemak terekstraksi dari dinding sel Pori-pori membesar Kompleks VK-1 tercuci keluar Sel tidak berwarna	Dinding sel mengalami dehidrasi. Pori-pori berkerut Permeabilitas menurun Kompleks VK-1 tidak dapat keluar sel Sel tetap berwarna violet biru
4. Safranin 20 detik	Tidak berpengaruh Sel tetap berwarna violet biru	Sel menyerap zat warna, berwarna merah

Keterangan : Setiap kali setelah penambahan zat warna dilakukan pencucian dengan air untuk menghilangkan kelebihan zat warna.

Beberapa antibiotik (seperti **Penisilin dan Sikloserin**), dapat mencegah sintesis peptidoglikan pada sel yang sedang tumbuh.

Bakteri Gram Positif :

- o Mempunyai lapisan peptidoglikan yang tebal
- o Lebih sensitif terhadap penisilin daripada bakteri gram negatif.
- o Lebih sensitif terhadap enzim lisosim , yang dapat memecah ikatan antara N-asetil glukosamin dan asam N-asetilmuramat. Enzim ini ditemukan di dalam putih telur, air liur dan air mata.
- o Percobaan dengan memberikan perlakuan lisozim untuk menghidrolisis polisakarida pada dinding sel dan memasukkan ke dalam larutan yang bersifat hipotonik atau isotonik akan memberikan hasil yang berbeda (Gambar 3.2)



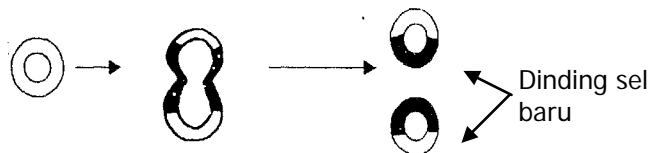
(a) Didalam lar. Hipotonik

(b) Didalam lar. Isotonik

Gambar 4.2. Perlakuan sel dengan lizozim dilanjutkan perendaman di dalam larutan hipotonik atau isotonik

Pada bakteri gram positif

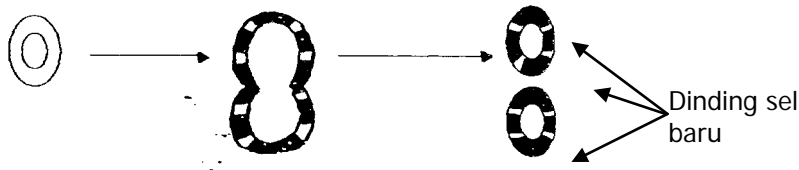
- Selama pertumbuhan, sintesis dinding sel baru terjadi sebelum sel melakukan pembelahan
- Sintesis dinding sel hanya terjadi di bagian tengah septum



Gambar 4.3. Bakteri gram positif

Pada bakteri gram negatif :

- Sintesis dinding sel baru terjadi selang-seling dengan dinding sel yang lama



Gambar 4.4. Bakteri gram negatif

2. SEL EUKARIOT

- Dinding sel lebih tebal dibandingkan dinding sel prokariot
- Pada ganggang, dinding sel terdiri dari selulosa
- Pada diatom dan krisofita (*chrysophytes*), dinding sel terdiri dari silika.
- Pada grup kokolitofora, dinding sel tdd. lapisan tipis selulosa dan sisik –sisik yang terdiri dari kalsium karbonat
- Frustula adalah dinding sel eukariot yang terdiri dari senyawa-senyawa anorganik seperti pada diatom dan kokolitofora
- Dinding sel ganggang juga mengandung polisakarida lain seperti manna, silan, senyawa pektat dan protein.
- Dinding sel fungi mengandung polimer glukosa dengan ikatan β 1,4 atau β 1,3 dan kitin.
- Dinding sel khamir mengandung kitin dalam jumlah kecil atau tidak mengandung kitin sama sekali.
- Pada umumnya protozoa tidak mempunyai dinding sel tetapi mempunyai lapisan permukaan yang mempengaruhi ketegaran sel yang disebut pseudokitin. Beberapa protozoa mempunyai lapisan selulosa, Ca-karbonat, silica/strontium sulfat
- Komponen dinding sel eukariot mempengaruhi sifat pewarnaannya
- Sel eukariot dengan pewarnaan gram, akan memperlihatkan reaksi gram positif yaitu berwarna biru ungu.

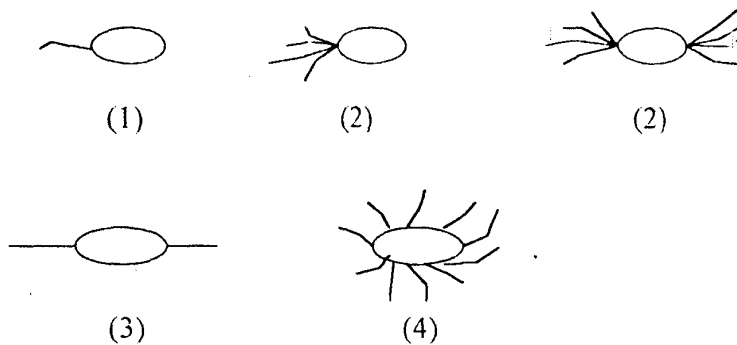
4.5 FLAGELA DAN PERGERAKAN SEL

a. SEL PROKARIOT

- Beberapa bakteri bersifat motil (dapat bergerak) karena mempunyai flagela pada permukaan sel
- Flagela mempunyai ukuran sangat kecil (± 20 nm) sehingga sukar diamati dengan mikroskop biasa, tetapi harus dengan pewarnaan khusus. Salah satu pewarna flagel yang digunakan adalah pewarna fuksin basa menggunakan asam tanat sebagai mordant. Mordant membantu melekatkan molekul pewarna sepanjang flagela, sehingga dapat dilihat dengan mikroskop biasa. Flagela dapat dilihat dengan mikroskop elektron dengan cara pembayangan atau dengan pewarnaan negatif.

Ada beberapa letak dan bentuk flagela pada sel bakteri :

1. **Flagela monotrichous**, mempunyai flagella pada salah satu ujung sel (polar) bergerak lebih cepat.
2. **Flagela lophotrichous**, mempunyai sekumpulan yang terdiri dari dua atau lebih flagella pada salah satu ujung (polar) atau pada kedua ujung sel
3. **Flagela amphotrichous**, mempunyai sebuah flagela masing-masing pada kedua ujungnya
4. **Flagela peritrichous**, mempunyai banyak flagela yang menyebar pada permukaan sel (gerakan lurus dan lambat)



Gambar 4.5. Letak dan bentuk flagela pada sel bakteri

Struktur flagela terdiri dari 3 bagian yaitu (1) Serabut, (2) Pengait dan (3) Struktur dasar. Flagela dapat dilepaskan dari sel secara fisik. Sel yang sudah tidak mempunyai flagela tetap hidup dan dapat mensintesis flagela baru. Pergerakan flagela memerlukan energi dari sel. Organisme yang mempunyai flagela peritrikit pada umumnya pergerakannya lurus dan lambat, sedangkan yang mempunyai flagela polar bergerak lebih cepat, berputar-putar dan berpindah-pindah arah. Beberapa organisme prokariot yang tidak mempunyai flagela akan bergerak dengan cara meluncur (gliding), dan akan bergerak hanya jika mengalami kontak dengan suatu permukaan padat, tetapi tidak akan bergerak jika terdapat dalam bentuk suspensi di dalam cairan.

Dalam mengamati pergerakan bakteri di bawah mikroskop, harus dibedakan antara pergerakan sejati yang disebabkan oleh flagela dengan pergerakan Brown yang terjadi pada sel yang telah mati. Pergerakan Brown adalah pergerakan yang terjadi pada semua benda kecil didalam air, disebabkan oleh pergerakan molekul air yang dipindahkan ke benda-benda kecil tersebut.

b. SEL EUKARIOT

Protozoa, ganggang dan fungi mempunyai aktivitas atau pergerakan yang dapat dibedakan atas dua macam, yaitu (1) pergerakan

sitoplasma didalam sel dan (2) pergerakan sel karena flagela dan silia. Flagela pada sel eukariot mempunyai fungsi yang sama dengan flagela pada sel prokariot, tetapi mempunyai struktur lebih kompleks dibandingkan dengan flagela prokariot.

Struktur silia menyerupai flagel, hanya bentuknya lebih kecil dan lebih pendek. Silia ditemukan pada protozoa dan sel hewan tingkat tinggi lain. Silia juga berfungsi dalam pergerakan, dimana pergerakan oleh silia dapat mencapai 300 – 2500 mikro meter per detik, yaitu lebih cepat daripada pergerakan sel yang mempunyai flagela.

4.6 STRUKTUR KHAS PADA SEL PROKARIOT

Pili adalah struktur pada sel bakteri yang menyerupai flagela tetapi tidak berfungsi dalam pergerakan. Ukuran pili jauh lebih kecil dibandingkan flagela, dan jumlahnya lebih banyak. Susunan kimia pili mungkin hampir menyerupai flagela. Tidak semua jasad renik mempunyai pili. Dan pada beberapa jasad renik terdapat lebih dari satu macam pili.

Fungsi pili diduga berperan dalam penempelan (adesi) bakteri pada permukaan bahan padat, atau berperan dalam pembentukan film pada permukaan cairan.

a. Kapsul dan Lapisan Lendir

Beberapa bakteri dan ganggang biru-hijau pada permukaan selnya mengeluarkan komponen berlendir yang dapat dilihat di bawah mikroskop setelah diwarnai dengan pewarna negatif. Komponen tersebut disebut kapsul jika terdapat dalam bentuk kompak mengelilingi permukaan sel, sedangkan jika bentuknya tidak terlalu kompak dan mudah terlepas disebut lapisan lendir. Kapsul dan lapisan lendir terdiri dari polisakarida, polipeptida atau kompleks polisakarida-protein. Beberapa sel eukariot yang tergolong khamir juga mempunyai kapsul.

Kapsul bukan merupakan organ yang penting untuk kehidupan sel, dan sel yang kehilangan kemampuannya untuk memproduksi kapsul masih dapat tumbuh secara normal di dalam suatu medium. Beberapa enzim mempunyai kemampuan menghidrolisis kapsul tanpa membunuh

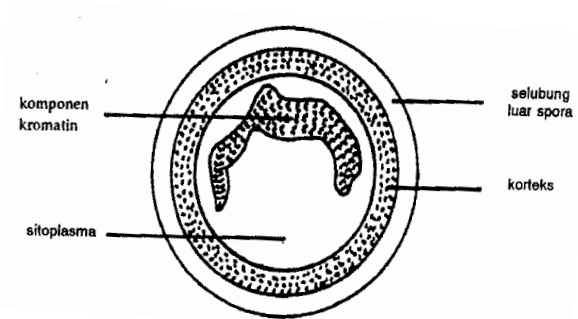
selnya. Kapsul kadang-kadang terbentuk hanya jika bakteri ditumbuhkan pada medium tertentu. *Leuconostoc mesenteroides* dapat membentuk kapsul dekstran hanya jika ditumbuhkan pada medium yang mengandung sukrosa, karena enzim yang memproduksi dekstran yaitu dekstran sukrase menggunakan sukrosa sebagai substrat.

Meskipun kapsul tidak berperan dalam pertumbuhan sel, tetapi mungkin berperan dalam menyesuaikan diri dengan lingkungan hidupnya. Sebagai contoh, bakteri penyebab penyakit pneumonia pada manusia yaitu *Streptococcus pneumoniae* (*pneumokokus*) selalu mempunyai kapsul pada permukaan selnya, sehingga sukar bagi sel pagosit di dalam tubuh untuk menelan dan menghancurkan bakteri tersebut.

b. Endospora

Endospora adalah struktur spesifik yang ditemukan pada beberapa jenis bakteri. Karena kandungan air endospora sangat rendah bila dibandingkan dengan sel vegetatifnya maka endospora berbentuk sangat padat dan sangat refraktil bila dilihat di bawah mikroskop. Endospora sangat sukar diwarnai dengan pewarna biasa, oleh karena itu harus digunakan pewarna spesifik, dan yang biasa digunakan adalah hijau malakit. Setiap sel bakteri hanya dapat membentuk satu spora.

Dua jenis bakteri yang dapat membentuk spora misalnya *Clostridium* dan *Bacillus*. *Clostridium* adalah bakteri yang bersifat anaerobik, sedangkan *Bacillus* pada umumnya bersifat aerobik. Struktur endospora mungkin bervariasi untuk setiap jenis maupun spesies, tetapi struktur umumnya pada umumnya hampir sama seperti terlihat pada gambar 3.10. Endospora bakteri merupakan struktur yang tahan terhadap keadaan lingkungan yang ekstrem, misalnya keadaan kering, pemanasan, keadaan asam, dan sebagainya.



Gambar 4.6. Struktur endospora bakteri

Jika endospora ditempatkan di dalam suatu medium yang baik, akan terjadi **germinasi**, di mana spora akan mengambil air dari sekelilingnya, membengkak, kehilangan sifat refraktilnya, dan menjadi lebih mudah diwarnai. Lapisan luar spora pecah, dan spora akan tumbuh menjadi sel vegetatif, di mana dinding sel spora membentuk dinding sel vegetatif.

c. Granula Penyimpanan

Di dalam sel bakteri terdapat granula yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan energi atau senyawa pembentuk struktur sel.

Beberapa senyawa yang disimpan di dalam granula pada beberapa sel prokariot misalnya :

1. Asam poli-beta-hidroksibutirat (PHB)
2. Glikogen dan pati
3. Fosfat anorganik dalam bentuk polifosfat
4. Energi dan karbon dalam bentuk lemak
5. Sulfur

d. Vakuola Gas

Sel ganggang biru-hijau akan tetap mengapung pada permukaan air karena adanya vakuola gas, sedangkan jika vakuola pecah, sel-sel akan mengendap dengan cepat.

4.7 STRUKTUR KHAS PADA SEL EUKARIOT

a. Vakuola

Sel eukariot mempunyai vakuola yang merupakan struktur yang dikelilingi oleh membran, dan di dalamnya mengandung larutan garam, asam amino, gula, dan senyawa lainnya. Pada beberapa ganggang, vakuola mengandung pigmen yang memberikan warna pada sel.

Pada protozoa, terdapat dua macam vakuola yaitu :

1. Vakuola makanan, mengandung enzim pencernaan makanan dan berperan dalam mencerna makanan yang masuk ke dalam sel dalam bentuk partikel.
2. Vakuola kontraktil, membantu dalam pengaturan tekanan osmotik sel dan berperan dalam pengeluaran produk-produk buangan dan air.

b. Lisosoma

Lisosoma adalah struktur di dalam sel eukariot yang dikelilingi membran dan mengandung enzim-enzim yang dapat menghancurkan senyawa-senyawa asing yang masuk ke dalam sel. Peranan penting dalam ketahanan tubuh hewan terhadap infeksi.

c. Mikrobodi

Sel-sel eukariot mempunyai mikrobodi yang merupakan struktur sederhana dengan ukuran diameter kurang dari satu mikron, dikelilingi oleh membran, dan mengandung beberapa enzim yang berperan dalam proses respirasi.

d. Mitokondria

Pada sel eukariot, proses respirasi dan fosforilasi oksidatif yang merupakan proses untuk memperoleh energi terjadi di dalam mitokondria. Mitokondria merupakan struktur yang dikelilingi oleh dua lapis membran yaitu membran bagian dalam yang dikelilingi oleh kristam, dan membran bagian luar. Mitokondria mempunyai ukuran diameter kira-kira satu mikron dengan panjang 2-3 mikron.

Mitokondria juga mengandung DNA dan komponen-komponen yang penting dalam sintesis protein seperti ribosoma dan komponen lainnya.

e. Kloroplas

Kloroplas adalah struktur sel yang berwarna hijau dan mengandung klorofil, ditemukan pada semua organisme eukariot yang melakukan fotosintesis.

f. Retikulum Endoplasma

Fungsi membran RE pada jasad renik belum banyak diketahui, tetapi pada sel-sel hewan tingkat tinggi berfungsi untuk melekatkan komponen-komponen penting dalam sintesis protein seperti ribosoma dan komponen lainnya. Diduga membran RE juga berfungsi sebagai saluran penghubung antara bagian permukaan dan bagian dalam sel.

g. Badan Golgi

Badan Golgi adalah kumpulan membran yang terdapat pada bagian-bagian tertentu sel eukariot dan mempunyai berbagai fungsi. Pada sel tanaman berperan dalam sintesis dinding sel, sedangkan pada sel hewan berfungsi untuk membungkus enzim yang akan dikeluarkan dari sel.

BAB 5

PERTUMBUHAN JASAD RENIK

5.1 PENDAHULUAN

Pertumbuhan dapat didefinisikan sebagai penambahan secara teratur semua komponen di dalam sel hidup.

1. Pada Organisme Multiseluler

Adalah peningkatan jumlah sel per organisme, dimana ukuran sel menjadi besar.

2. Pada Organisme Uniseluler

Adalah penambahan jumlah sel, yang berarti juga penambahan jumlah organisme, misalnya pertumbuhan yang terjadi pada suatu kultur mikroorganisme.

3. Pada Organisme Soenositik/Aseluler

Selama pertumbuhan, ukuran sel menjadi bertambah besar tetapi tidak terjadi pembelahan sel.

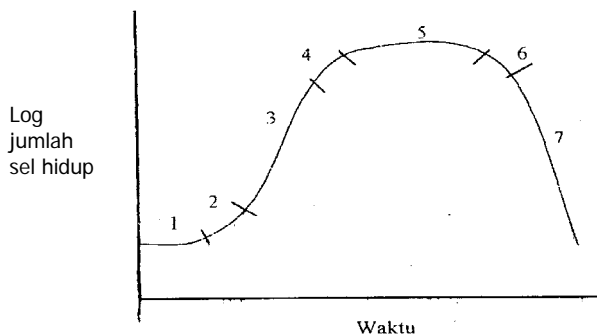
Pertumbuhan disebut dalam keadaan keseimbangan jika terjadi secara teratur dalam keadaan konstan, sehingga jumlah penambahan komponen kimia juga konstan. Sebagai contoh penambahan jumlah masa sel sebanyak dua kali dalam keadaan keseimbangan akan mengakibatkan penambahan jumlah komponen sel seperti air, protein, RNA, DNA dan sebagainya sebanyak dua kali pula.

Umur sel ditentukan segera setelah proses pembelahan sel selesai, sedangkan umur kultur ditentukan dari waktu atau lamanya inkubasi. Ukuran sel tergantung dari kecepatan pertumbuhannya. Semakin baik zat nutrisi di dalam substrat tempat tumbuhnya, mengakibatkan pertumbuhan sel semakin cepat dan ukuran sel semakin besar.

Pertumbuhan sel bakteri, kapang dan khamir akan dibahas pada masing-masing bab mengenai bakteri, kapang dan khamir.

5.2 KURVA PERTUMBUHAN JASAD RENIK

Jika suatu bakteri mempunyai waktu generasi 20 menit, berarti satu sel bakteri tersebut akan memperbanyak diri menjadi dua sel dalam waktu 20 menit. Jika sel tersebut diinkubasikan dalam suatu medium pada kondisi yang optimum untuk pertumbuhannya, maka dalam waktu 48 jam, sel tersebut akan mengalami pembelahan sebanyak $48 (60)/20$ kali atau 144 generasi. Jumlah sel setelah 48 jam secara teoritis akan mencapai 2^{144} sel. Jika setiap sel mempunyai berat 10^{12} g, maka secara teoritis berat seluruh sel setelah 48 jam akan mencapai $2^{144} \times 10^{12}$ g atau 2.2×10^{31} g, atau sama dengan 4000 kali berat bumi. Tetapi pada kenyataannya perkembangan jasad renik tidak terjadi demikian, karena tidak semua sel yang terbentuk akan terus hidup. Pertumbuhan jasad renik di dalam kultur statis digambarkan sebagai kurva seperti terlihat pada Gambar 7.1



Gambar 5.1. Kurva pertumbuhan jasad renik

Keterangan :

1. Fase adaptasi (*Initial stationary phase*)
2. Fase pertumbuhan awal (*Lag phase / phase of positive growth acceleration*)
3. Fase pertumbuhan cepat (*Log phase / Logarithmic growth phase*)

4. Fase pertumbuhan lambat / fase pengurangan pertumbuhan (*Phase of negative growth acceleration*)
5. Fase stationer / fase konstan (*Maximum stationary phase*)
6. Fase kematian (*Phase of acceleration death*)
7. Fase kematian dipercepat (*Logarithmic death phase*)

1. Fase Adaptasi

Jika jasad renik dipindahkan ke suatu medium, mula-mula akan mengalami fase adaptasi (untuk menyesuaikan dengan substrat dan kondisi lingkungan disekitarnya). Pada fase ini belum terjadi pembelahan sel karena beberapa enzim belum disintesa. Jumlah sel pada fase ini mungkin tetap, tetapi kadang-kadang menurun. Lamanya fase bervariasi, dapat Cepat atau lambat tergantung kecepatan penyesuaian mikroorganisme dengan lingkungan sekitarnya.

Lamanya fase adaptasi dipengaruhi oleh beberapa faktor :

a. Medium dan lingkungan pertumbuhan

Sel yang ditempatkan dalam medium dan lingkungan pertumbuhan sama dengan lingkungan sebelumnya mungkin tidak diperlukan waktu adaptasi. Tetapi jika nutrisi yang tersedia dan kondisi lingkungan yang baru sangat berbeda dengan sebelumnya, diperlukan waktu penyesuaian/adaptasi untuk mensintesis enzim-enzim yang diperlukan untuk metabolisme.

b. Jumlah Inokulum

Jika jumlah awal sel tinggi, maka fase adaptasi semakin cepat.

Fase adaptasi bisa berjalan lambat karena beberapa sebab :

- a. Kultur dari medium kaya nutrisi dipindah ke medium dengan kandungan nutrisi terbatas.
- b. Mutant yang baru terbentuk menyesuaikan diri dengan lingkungannya.
- c. Kultur yang dipindahkan dari fase stationer ke medium baru dengan komposisi sama seperti sebelumnya.

2. Fase Pertumbuhan Awal (*Lag Phase/Phase of Positive Growth Acceleration*)

Setelah mengalami fase adaptasi, el mikroorganisme mulai membelah dengan kecepatan yang masih rendah, karena baru selesai tahap penyesuaian diri

3. Fase Pertumbuhan Cepat (*Log Phase / Logarithmic Growth Phase*)

Pada fase ini, sel jasad renik membelah dengan cepat dan konstan, dimana pertambahan jumlah sel mengikuti kurva logaritmik. Kecepatan pertumbuhan pada fase ini sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya., seperti : pH, kandungan nutrisi, kondisi lingkungan (suhu dan kelembaban udara). Pada fase ini, sel mikroorganisme **membutuhkan energi lebih banyak dari pada fase lain.** Selain itu **sel paling sensitif terhadap keadaan lingkungan.**

4. Fase Pertumbuhan Lambat / fase Pengurangan Pertumbuhan (*Phase of Negative Growth Acceleration*)

Pada fase ini pertumbuhan jasad renik diperlambat karena beberapa sebab :

- a. Zat nutrisi di dalam medium sudah sangat berkurang
- b. Adanya hasil-hasil metabolisme yang mungkin beracun dapat menghambat pertumbuhan jasad renik.

Pada fase ini, pertumbuhan sel tidak stabil tetapi jumlah populasi masih naik karena jumlah sel yang tumbuh lebih besar dari jumlah sel yang mati.

5. Fase Stasioner / Fase konstan (*Maximum Stationary Phase*)

Pada fase ini, jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel menjadi lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun zat nutrisi mulai habis. Karena kekurangan zat nutrisi, sel kemungkinan mempunyai komposisi sel tidak sama/berbeda dengan sel pada fase logaritmik. Pada fase ini, **sel-sel menjadi lebih tahan terhadap keadaan ekstrem, seperti : panas, dingin, radiasi, bahan kimia.**

6 dan 7. Fase Kematian (*Phase Of Acceleration Death*) dan Fase Kematian dipercepat (*Logarithmic Death Phase*)

Pada fase ini, Populasi jasad renik mulai mengalami kematian karena beberapa sebab, yaitu :

- a. Nutrien di dalam medium sudah habis
- b. Energi cadangan di dalam sel habis

Jumlah sel yang mati semakin lama semakin banyak dan kecepatan kematian dipengaruhi oleh kondisi nutrien, lingkungan dan jenis jasad renik

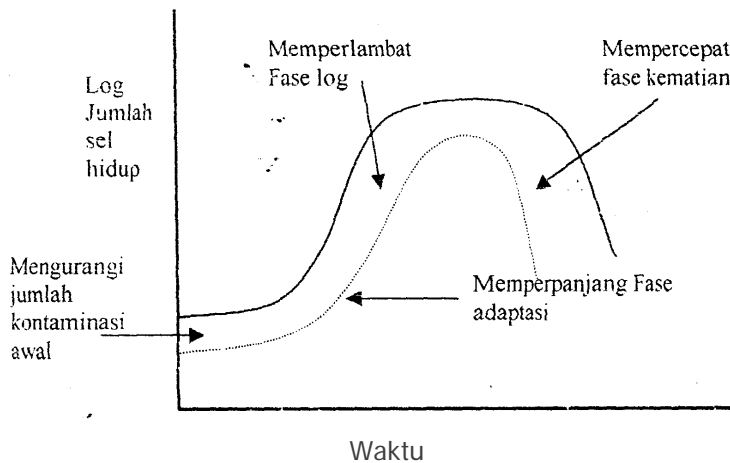
5.3 PENGARUH PENGAWETAN MAKANAN TERHADAP PERTUMBUHAN JASAD RENIK

Salah satu penyebab kerusakan makanan adalah karena terjadinya pertumbuhan jasad renik pada makanan tersebut. Supaya makanan menjadi lebih awet, maka dilakukan proses pengawetan makanan. Dalam pengawetan makanan, prinsipnya adalah memberi perlakuan terhadap makanan sedemikian rupa untuk mencapai salah satu dari tujuan pengawetan makanan.

Tujuan Pengawetan Makanan :

1. Mengurangi jumlah awal sel jasad renik di dalam makanan.
2. Memperpanjang fase adaptasi semaksimal mungkin sehingga pertumbuhan jasad renik diperlambat.
3. Memperlambat fase logaritmik
4. Mempercepat fase kematian sel jasad renik

Jika dihubungkan dengan kurva pertumbuhan bakteri, pengaruh proses pengawetan makanan terhadap pertumbuhan jasad renik dapat digambarkan seperti kurva pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2 . Pengaruh pengawetan terhadap kurva pertumbuhan jasad renik

Beberapa prinsip pengawetan yang dapat diterapkan untuk memperpanjang masa simpan makanan :

1. Mengurangi kontaminasi awal pada makanan
Misalnya dengan pembersihan/pemotongan bagian-bagian yang kotor, pencucian, blanching dan sebagainya.
2. Membuat lingkungan yang tidak cocok untuk pertumbuhan jasad renik, dapat dilakukan dengan beberapa cara:
 - a. Menurunkan kelembaban (RH) atau A_w , dengan cara pengeringan atau penambahan garam / gula.
 - b. Menurunkan suhu sehingga tercapai suhu pendinginan atau pembekuan.
 - c. Menurunkan pH makanan dengan penambahan asam atau fermentasi.
 - d. Menghilangkan oksigen, dengan cara pengepakan vakum untuk menghambat pertumbuhan jasad renik aerobik.
 - e. Penambahan zat penghambat jasad renik.
3. Memberikan perlakuan yang mempercepat kematian sel
Misalnya dengan pemanasan, pengeringan atau iradiasi

5.4 FAKTOR - FAKTOR YANG MEMPENGARUHI PERTUMBUHAN JASAD RENIK

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan jasad renik yang bersifat heterotrof adalah tersedianya nutrisi, air, suhu, pH, oksigen dan potensial oksidasi-reduksi, adanya zat penghambat dan adanya jasad renik lain.

1. NUTRIEN

Jasad renik membutuhkan nutrisi untuk kehidupan dan pertumbuhannya, yaitu sebagai :

- a. Sumber karbon
- b. Sumber nitrogen
- c. Sumber energi
- d. Faktor pertumbuhan yaitu mineral dan vitamin

Nutrien dibutuhkan untuk membentuk energi dan untuk menyusun komponen-komponen sel. Kebutuhan nutrisi untuk setiap jasad renik bervariasi. Jasad renik yang tumbuh pada makanan pada umumnya bersifat *heterotrof* yaitu yang dapat menggunakan karbohidrat sebagai sumber energi dan karbon, walaupun komponen organik lain yang mengandung karbon juga dapat digunakan. Kebanyakan organisme heterotrof menggunakan komponen organik yang mengandung nitrogen sebagai sumber N, tetapi beberapa dapat pula menggunakan sumber nitrogen anorganik.

Beberapa organisme heterotrof yang tidak dapat atau kehilangan kemampuan untuk mensintesis berbagai komponen nitrogen organik, membutuhkan komponen tersebut di dalam substrat untuk pertumbuhannya. Sebaliknya jasad renik lain, seperti *Escherichia coli* dan *Enterobacter aerogenes*, khamir dan kapang dapat tumbuh dengan baik pada media yang mengandung glukosa sebagai sumber nutrisi organik. Streptococci, Stafilococci dan berbagai organisme heterotrof lainnya mungkin membutuhkan beberapa sumber nitrogen organik lainnya dalam bentuk asam amino, purin dan pirimidin serta faktor-faktor pertumbuhan seperti vitamin B. Thiamin (vitamin B1), riboflavin (vitamin B2), asam nikotinat (niasin), piridoksin (vitamin B6), asam pantotenat dan

kobalamin (vitamin B₁₂) dibutuhkan oleh organisme yang tergolong pemilih dan sukar tumbuh.

Vitamin yang larut dalam lemak yaitu vitamin A, D, dan E tidak dibutuhkan oleh kebanyakan jasad renik, sedangkan vitamin K (struktur naftoquinon) hanya dibutuhkan oleh bakteri yang tergolong dalam jenis *Mycobacterium* dan *Bacterioides*, yang berfungsi sebagai substitusi untuk koenzim Q (benzoquinon) dalam sistem transport elektron (respirasi). Vitamin C tidak berfungsi sebagai faktor pertumbuhan, tetapi dapat merangsang pertumbuhan beberapa organisme karena diduga dapat mengatur potensi oksidasi-reduksi yang tepat terhadap medium. Asam lemak hanya dibutuhkan oleh beberapa organisme, terutama jika di dalam medium tidak terdapat vitamin B, sedangkan sterol hanya dibutuhkan oleh jenis *Mycoplasma*.

Nutrien dapat masuk ke dalam sel jasad renik melalui beberapa cara, yaitu :

a. Difusi Pasif

Pada difusi pasif, nutrisi masuk searah gradien konsentrasi yaitu dari konsentrasi yang lebih tinggi ke konsentrasi yang lebih rendah. Karena konsentrasi di luar sel dan di dalam sel berbeda sehingga solut (nutrien) bisa masuk dan terjadi keseimbangan konsentrasi terutama pada nutrisi dengan berat molekul kecil. Sebagai contoh, misalnya air yang dapat keluar masuk sel secara bebas.

b. Difusi yang Dipercepat (Difusi Fasilitasi)

Seperti halnya pada difusi pasif, pada difusi dipercepat komponen bergerak dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah, tetapi kecepatannya lebih tinggi daripada difusi pasif karena dibantu oleh suatu karier yaitu **enzim permease**.

Enzim Permease adalah :

- Suatu protein pada membran sel.
- Merupakan enzim yang dapat ditempati nutrisi
- Dapat melewati membran semi permeabel

Sifat Enzim Permease:

- Bekerja secara spesifik terhadap komponen tertentu
- Bersifat terinduksi

- Mempunyai kecepatan maksimum pada konsentrasi substrat tertentu.

Contoh Difusi Fasilitasi :

- Masuknya gula ke dalam sel eukariotik
- Masuknya gliserol ke dalam sel prokariotik

c. Transport Aktif

Berbeda dengan proses difusi, pada transport aktif komponen bergerak dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi. Oleh karena itu, dibutuhkan karier (enzim permease) dan untuk melepaskan nutrisi ke dalam sel diperlukan energi (ATP). Sebagai contoh, misalnya masuknya laktosa ke dalam sel *E. coli*, membutuhkan Enzim *β galaktosa permease* dan energi. Energi dibutuhkan oleh sel untuk menurunkan afinitas permease terhadap laktosa ke dalam sel, sehingga afinitas permease terhadap laktosa di luar sel lebih tinggi daripada afinitas di dalam sel.

d. Translokasi Gugus

Pada translokasi gugus, untuk memasukkan nutrisi digunakan enzim, tetapi tidak digunakan energi (ATP). Enzim yang digunakan disebut **enzim transferase** atau **Enzim PTS (*Phosphotransferase System*)**. Enzim ini menggunakan fosfat (P).

Komponen yang masuk dari luar sel, setelah berada di dalam sel diubah menjadi komponen bentuk lain yang tidak dapat keluar lagi melalui membran karena membran bersifat *impermeabel* terhadap komponen tersebut.

2. TERSEDIA NYA AIR

Sel jasad renik memerlukan air untuk hidup dan berkembang biak. Oleh karena itu, pertumbuhan sel jasad renik di dalam suatu makanan sangat dipengaruhi oleh jumlah air yang tersedia. Selain merupakan bagian terbesar dari komponen sel (70 – 80 %), air juga dibutuhkan sebagai reaktan berbagai reaksi biokimia. Tidak semua air yang terdapat dalam bahan pangan dapat digunakan jasad renik. Beberapa kondisi atau keadaan dimana air tidak bisa digunakan oleh jasad renik:

- a. Adanya solut dan ion yang dapat mengikat air didalam larutan
Misalnya : gula dan garam konsentrasi tinggi akan mengikat air dari bahan pangan, bahkan dapat mengikat air dari dalam sel jasad renik jika konsentrasi solut diluar sel lebih besar daripada di dlm sel.
- b. Koloid hidrofilik (gel) dapat mengikat air sebanyak 3-4 % agar dapat menghambat pertumbuhan bakteri didalam medium
- c. Air dalam bentuk kristal es atau hidrasi tidak dapat digunakan oleh jasad renik

Aktivitas Air (Aw)

Tersedianya air didalam suatu bahan dapat dinyatakan dalam istilah Aw. Menurut Hukum Raoult :

$$Aw = \frac{P}{P_o} = \frac{n_2}{n_1 + n_2}$$

Dimana: P : tekanan uap air larutan
 P_o : tekanan uap air murni pada suhu yang sama
 n₁ : jumlah molekul komponen yang dilarutkan
 n₂ : jumlah molekul pelarut (air)
 n₁ + n₂ : jumlah molekul didalam larutan

Berdasarkan rumus tersebut, maka air murni mempunyai nilai Aw 1,0. Nilai Aw suatu bahan pangan akan mencapai keseimbangan dengan kelembaban udara relatif (RH) dari ruangan disekitar bahan pangan tersebut. Oleh karena itu jika :

- RH lebih kecil dari Aw , maka bahan pangan mengalami penguapan air
- RH lebih besar dari Aw, maka terjadi penyerapan air oleh bahan pangan tersebut sampai pada suatu saat dimana tercapai keadaan yang seimbang.

Jasad renik mempunyai kebutuhan Aw minimal yang berbeda-beda untuk pertumbuhannya. Tabel 5.1. menunjukkan batas Aw minimal

untuk pertumbuhan beberapa kelompok jasad renik. Bakteri pada umumnya membutuhkan Aw minimal mendekati 1,00.

Tabel 5.1. Batas Aw minimal untuk pertumbuhan jasad renik penyebab kebusukan makanan

Kelompok Jasad Renik	Aw minimal
Bakteri	0,91
Khamir	0,88
Kapang	0,80
Bakteri Halofilik	0,75
Fungi Xerofilik	0,65
Khamir Osmofilik	0,60

Frazier dan Westhooff (1978)

Sebagai contoh Aw minimal untuk bakteri adalah 0,97 untuk *Pseudomonas*, 0,96 untuk *Escherichia coli*, 0,95 untuk *Bacillus subtilis*. 0,945 untuk *Enterobacter aerogenes*, 0,93 untuk *Clostridium botulinum* dan 0,86 untuk *Staphylococcus aureus*.

Kapang membutuhkan Aw untuk germinasi spora aseksual dan pertumbuhannya relatif lebih rendah dibandingkan bakteri. Nilai aw minimal untuk germinasi spora adalah 0,62 untuk beberapa kapang dan 0,93 untuk kapang lainnya (misalnya *Mucor*, *Rhizopus* dan *Botrytis*). Nilai Aw minimal untuk pertumbuha kapang adalah 0,98. Untuk *Aspergillus* 0,995-0,98 untuk *Rhizopus* dan 0,9935 untuk *Penicillium*. Pada Aw dibawah 0,62 semua pertumbuhan kapang akan dihambat.

3. NILAI PH

Nilai pH medium sangat mempengaruhi jenis jasad renik yang dapat tumbuh. Jasad renik pada umumnya dapat tumbuh pada kisaran pH 3 – 6. Kebanyakan bakteri mempunyai pH optimum pertumbuhan 6,5 – 7,5 dan tidak dapat tumbuh baik pada pH dibawah 5,0 dan pH diatas 8,5 kecuali bakteri asam asetat (*Acetobacter suboxydans*), serta bakteri oksidasi sulfur.

Khamir dapat tumbuh pada pH 2,5 – 8,5 dan pH optimum pertumbuhan adalah pada pH 4 – 5. Oleh karena itu, khamir tumbuh pada pH rendah dimana pertumbuhan bakteri terhambat. Kapang dapat tumbuh pada pH 3 – 8,5 dan pH optimum pertumbuhan 5 – 7 .

Makanan dengan pH rendah (dibawah 4,5), biasanya tidak ditumbuhi oleh bakteri, tetapi dapat menjadi rusak karena pertumbuhan khamir dan kapang. Oleh karena itu, makanan yang mempunyai pH rendah relatif lebih tahan selama penyimpanan dibandingkan dengan makanan yang mempunyai pH netral atau mendekati netral.

Dalam pengolahan pangan, makanan dapat dibedakan atas beberapa grup berdasarkan pH nya. Pembagian makanan atas beberapa grup ini bertujuan untuk mengetahui daya awet suatu makanan. Dengan demikian, memudahkan mencari perlakuan yang harus diberikan untuk mengawetkan makanan tersebut. Semakin rendah pH makanan, semakin berkurang perlakuan pengawetan makanan yang harus diberikan pada makanan tersebut.

Penggolongan makanan berdasarkan pH-nya adalah sebagai berikut :

- a. **Makanan berasam rendah**, yaitu makanan yang mempunyai pH diatas 5,3
Misalnya : jagung, daging, ikan dan susu
- b. **Makanan berasam sedang**, yaitu makanan yang mempunyai pH 5,3 sampai diatas 4,5.
Misalnya: bayam, asparagus, bit dan waluh kuning
- c. **Makanan asam**, yaitu makanan yang mempunyai pH 4,5 sampai diatas 3,7.
Misalnya: tomat, pear, nenas.
- d. **Makanan berasam tinggi**, yaitu makanan yang mempunyai pH 3,7 atau kurang
Misalnya: buah-buahan yang tergolong asam (beries) dan acar-acaran (sayur asin dan sauerkraut)

4. SUHU

Masing-masing jasad renik mempunyai suhu optimum, minimum dan maksimum untuk pertumbuhannya. Jika suhu lingkungan lebih kecil dari suhu minimum atau lebih besar dari suhu maksimum pertumbuhannya maka aktivitas enzim akan berhenti, bahkan pada suhu yang terlalu tinggi akan terjadi denaturasi enzim. Jasad renik dapat dibedakan atas beberapa grup berdasarkan atas kemampuannya untuk dapat memulai pertumbuhan pada kisaran suhu tertentu. Penggolongan

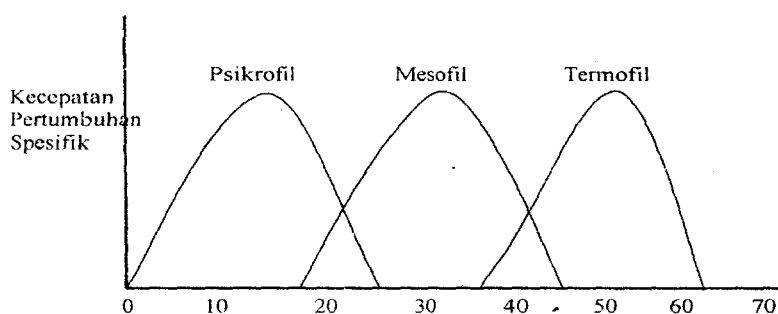
tersebut yaitu (1) Psikrofil, (2) mesofil dan (3) termofil, masing-masing dengan kisaran suhu seperti tercantum pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2. Penggolongan jasad renik menurut pertumbuhannya

Grup Jasad renik	Suhu Pertumbuhan ($^{\circ}\text{C}$)		
	Minimum	Optimum	Maksimum
Psikrofil	5 – 0	5 – 15	15 – 20
Mesofil	10 – 20	20 – 40	40 – 45
Termofil	25 – 45	45 – 60	60 – 80

Suhu penyimpanan bahan makanan sangat berpengaruh besar terhadap jenis dan kecepatan pertumbuhan jasad renik. Kapang dan khamir pada umumnya merupakan golongan mesofil, dapat tumbuh baik pada suhu 25 – 30 $^{\circ}\text{C}$. Oleh karena itu, tumbuh dengan baik pada makanan yang disimpan pada suhu kamar, bahkan beberapa masih dapat tumbuh pada suhu pendinginan.

Makanan yang disimpan di dalam lemari es, masih mungkin ditumbuhi oleh bakteri yang tergolong Psikrofil, sedangkan makanan yang disimpan dalam keadaan panas mungkin ditumbuhi oleh bakteri termofil. Pengaruh suhu terhadap kecepatan pertumbuhan sel dapat dijelaskan seperti pada Gambar 5.3 .



Gambar 5.3. Pengaruh suhu terhadap kecepatan pertumbuhan jasad renik

Pengaruh suhu terhadap kecepatan pertumbuhan sel mikroorganisme :

- a. Pertumbuhan jasad renik terjadi pada suhu dengan kisaran (antara suhu minimal dan maksimal) kira-kira 30 °C.
- b. Kecepatan pertumbuhan jasad renik meningkat lambat dengan naiknya suhu sampai mencapai kecepatan pertumbuhan maksimum.
- c. Diatas suhu maksimum, kecepatan pertumbuhan menurun dengan cepat dengan naiknya suhu.

5. TERSEDIAANYA OKSIGEN

Konsentrasi oksigen di dalam bahan makanan dan lingkungannya berpengaruh terhadap jenis jasad renik yang tumbuh pada makanan tersebut.

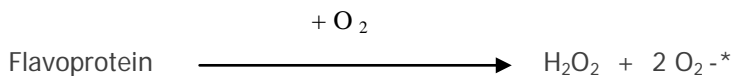
Berdasarkan kebutuhan oksigen, jasad renik dibedakan menjadi :

- a. Aerobik (membutuhkan oksigen)
- b. Anaerobik (tidak membutuhkan oksigen)
- c. Fakultatif Anaerob (membutuhkan / tidak membutuhkan oksigen)
- d. Mikro Aerofilik (membutuhkan oksigen sedikit)

Kapang dan khamir pada umumnya bersifat aerob, sedangkan bakteri dapat bersifat aerob dan anaerob.

a. Mengapa bakteri dapat bersifat aerob / an-aerob ?

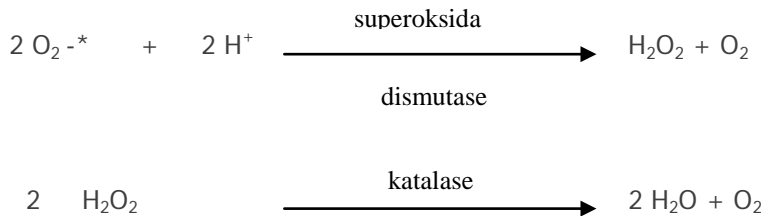
Setiap bakteri mempunyai enzim golongan flavoprotein, yang dapat bereaksi dengan oksigen (O₂) sehingga menghasilkan senyawa-senyawa beracun yaitu H₂O₂ dan O₂^{*} (Radikal bebas).



b. Bakteri aerob dan an aerob tetapi bersifat aerotoleran (tidak sensitif terhadap oksigen)

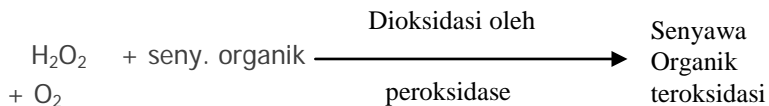
Kedua jenis bakteri ini mempunyai dua enzim, yaitu :

1. Enzim superoksida dismutase, yang dapat memecah radikal bebas
2. Enzim katalase, yang dapat memecah H₂O₂ sehingga menjadi senyawa-senyawa tidak beracun.



c. Bakteri fakultatif an-aerob

1. Mempunyai enzim Superoksida Dismutase
2. Tidak mempunyai enzim Katalase
3. Mempunyai enzim Peroksidase, yang dapat mengkatalisis reaksi H_2O_2 dengan senyawa organik dan menghasilkan senyawa beracun.
- 4.

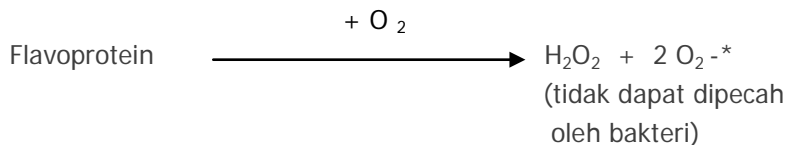


d. Bakteri anaerob

Oksigen (O_2) merupakan racun bagi bakteri An aerob, karena tidak mempunyai :

1. Enzim superoksida dismutase dan
2. Enzim katalase.

Sehingga senyawa yang terbentuk dari reaksi di bawah ini tidak dapat dipecah oleh bakteri. Jadi enzim **Superoksida Dismutase** mutlak diperlukan jasad renik untuk hidup secara aerobik.



e. Bakteri mikroaerofilik

Bakteri ini mempunyai enzim Hidrogenase yang menjadi tidak aktif jika konsentrasi oksigen di lingkungan terlalu tinggi.

6. KOMPONEN ANTIMIKROBA

Komponen antimikroba terdapat dalam makanan melalui berbagai cara:

- a. Secara alamiah terdapat di dalam bahan pangan
Misal : - Laktenin dan faktor antikoliform dalam susu
- Lisozim dalam putih telur
- Asam benzoat dalam buah tertentu (Cranberies)
- b. Ditambahkan dengan sengaja pada makanan
Misal : - Asam benzoat dalam sari buah dan jeli
- Asam propinat dalam roti dan keju
- Asam sorbat dalam keju dan buah-buahan
- c. Terbentuk selama pengolahan atau oleh jasad renik yang tumbuh selama fermentasi makanan

Jasad renik yang tumbuh pada makanan mungkin akan memproduksi komponen yang menghambat jasad renik lainnya.

Misalnya : asam, alkohol, peroksida, antibiotik, dsb

Contoh:

- o Propioni bakteri dalam keju Swiss dapat memproduksi asam propionat untuk menghambat pertumbuhan kapang
- o Alkohol yang diproduksi oleh khamir dalam fermentasi minuman anggur dapat menghambat jasad renik lain
- o Antibiotik Nisin (yang diproduksi *Streptococcus lactis*) dapat menghambat pertumbuhan Clostridium selama pemeraman keju.

Beberapa jasad renik juga dapat memecah komponen antimikroba dalam makanan.

Misalnya:

- Kapang dan bakteri dapat merusak komponen fenol selama pengasapan daging dan ikan atau merusak asam benzoat yang ditambahkan makanan.
- Sulfur dioksida dapat dirusak khamir
- Laktobasili dapat menginaktivasi Nisin

BAB 6

STERILISASI

6.1 PENDAHULUAN

Sterilisasi adalah suatu proses untuk **membunuh semua jasad renik yang ada** sehingga jika ditumbuhkan dalam suatu media tidak ada jasad renik yang dapat berkembang biak. **Sterilisasi** harus dapat membunuh jasad renik yang paling tahan panas yaitu spora bakteri.

Sterilisasi sangat penting dalam penelitian=penelitian di bidang mikrobiologi, mengingat bahwa penelitian terhadap suatu spesies mikrobial harus selalu didasarkan atas penelitian terhadap sifat biakan murni spesies tersebut, sehingga untuk dapat memisahkan kegiatan mikrobial yang satu dengan mikrobial yang lain, atau untuk memelihara suatu mikrobial secara biakan murni, perlu digunakan alat-alat dan medium yang bebas mikroorganisme atau steril.

Sterilisasi Komersial adalah suatu proses untuk membunuh semua jasad renik penyebab kebusukan makanan pada kondisi suhu penyimpanan yang ditetapkan. Makanan yang telah mengalami sterilisasi komersial mungkin masih mengandung sejumlah jasad renik yang tahan proses sterilisasi, tetapi tidak mampu berkembang biak pada suhu penyimpanan normal yang ditetapkan untuk makanan tersebut.

Disinfeksi adalah suatu proses untuk membunuh jasad renik yang bersifat patogenik dengan cara kimia atau fisika. Semua disinfektan efektif terhadap sel vegetatif tetapi tidak selalu efektif terhadap spora.

Antiseptis adalah suatu proses untuk menginaktifkan atau membunuh jasad renik dengan cara kimia. Bahan antiseptik mungkin bersifat membunuh bakteri dan fungi.

6.2 MACAM-MACAM CARA STERILISASI

Sterilisasi dapat dilakukan dengan bermacam-macam cara :

1. Secara Fisik ,dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu :

- Pemanasan : Basah, dan kering.
- Penyaringan (Filtrasi).
- Radiasi (sinar U.V, sinar x, dll.).

2. Secara Chemis :

Dengan bahan-bahan kimia yang dapat membunuh mikroorganisme yang disebut "**Desinfektan**" (Misal : alkohol, karbol, lysol, sublimat dll.)

Cara sterilisasi yang dipakai tergantung pada macamnya bahan dan sifat bahan yang disterilkan antara lain:

- a. Ketahanan terhadap panas.
- b. Bentuk bahan yang disterilkan : padat, cair/ gas.

6.3 STERILISASI SECARA FISIK

Sterilisasi secara fisik dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu :

a. Pembakaran diatas Lampu Spiritus

Sterilisasi secara fisik dipakai untuk sterilisasi jarum platina, ose dan sebagainya yang terbuat dari platina/ nikrom, dengan cara membakar alat-alat tersebut diatas api lampu spiritus sampai pijar.

b. Pemanasan Basah

Pemanasan basah dapat membunuh jasad renik karena panas basah dapat menyebabkan denaturasi protein (termasuk enzim-enzim di dalam sel) sehingga menyebabkan **kematian jasad renik**.

c. Perebusan

Perebusan adalah pemanasan didalam air mendidih atau uap air pada suhu 100 °C selama beberapa menit, tetapi banyak spora bakteri tahan panas masih hidup.

d. Pemanasan dengan Tekanan

Alat yang digunakan *otoklaf (Autoclave)* :

§ Terdiri dari suatu bejana tahan tekanan tinggi yang dilengkapi dengan manometer, termometer dan klep bahaya.

§ Merupakan alat sterilisasi yang paling baik.

§ Bahan / alat yang disterilkan :

Bahan / alat yang tidak rusak karena pemanasan dengan tekanan tinggi,

Misalnya : media utk pertumbuhan mikroba, Aquadest dsb.

§ Metode ini dapat membunuh spora yang paling tahan panas.

§ Dilakukan pada **suhu 121 °C selama 15-30 menit** dengan tekanan ± 2 atm

Daya membunuh dari uap air panas :

Disebabkan pada waktu kondensasi, pada bahan yang disterilkan dilepaskan sejumlah besar panas laten sehingga terjadi pengerutan, yang menyebabkan penyerapan uap air baru yang berarti lebih banyak panas yang diserap.

Sterilisasi Dengan Metode Ultra High Temperatur (UHT) adalah sterilisasi yang dilakukan pada suhu tinggi dalam waktu singkat (suhu 135-150°C selama 2-6 detik), dan umumnya untuk sterilisasi **bahan cair (susu)**.

e. Sterilisasi dengan cara Tindalisasi

§ Sterilisasi yang digunakan untuk sterilisasi bahan-bahan yang mengandung cairan yang tidak dapat disterilkan dengan autoclave (yang tidak tahan pada temperatur tinggi dan kering), misalnya untuk sterilisasi media yang mengandung telur, Untuk sterilisasi protein dan sebagainya.

§ Alat yang digunakan disebut "**ARNOLD STEAM STERILIZER**"

Cara :

- Dilakukan dengan cara memanaskan medium/ larutan menggunakan uap ($T = 100^{\circ}\text{C}$) selama $\frac{1}{2}$ - 1 jam setiap hari selama 3 hari berturut-turut.
- Waktu inkubasi diantara 2 proses pemanasan bertujuan untuk membunuh spora yang dapat bergeminasi menjadi sel vegetatif.

Sterilisasi dengan cara ini dilakukan langkah-langkah sebagai berikut :

- Bahan disterilkan dengan menggunakan suhu 100°C selama 30 menit, dengan tujuan agar sel-sel vegetatif mikrobia terbunuh. Setelah itu bahan diinkubasi pada temperatur kamar selama 24 jam, agar spora yang masih ada pada bahan tersebut tumbuh menjadi sel-sel vegetatif.
- Kemudian dilakukan sterilisasi tahap II pada suhu 100°C selama 30 menit, setelah itu diinkubasi lagi pada temperatur kamar selama 24 jam
- Selanjutnya dilakukan sterilisasi tahap III pada suhu 100°C selama 30 menit dan diinkubasi lagi pada temperatur kamar selama 24 jam.
- Sterilisasi dihentikan sampai tidak ada pertumbuhan sel vegetatif mikrobia.

f. Pasteurisasi

Proses pemanasan pada suhu dan waktu tertentu dimana semua mikroba pathogen dapat terbunuh.

Misal : *Bakteri TBC dan Brucellosis*.

Pasteurisasi dibagi dua, yaitu :

1. Pasteurisasi cepat : dilakukan pada suhu 72°C selama 15 detik.
2. Pasteurisasi lambat : dilakukan pada suhu 65°C selama 30 menit.

- § Spora dan bentuk vegetatif dari bakteri termofil tahan.
- § Setelah pasteurisasi, produk harus didinginkan secepat mungkin untuk mencegah pertumbuhan bakteri yang masih hidup.

g. Pemanasan Kering

- § Alat yang digunakan : *Hot air oven (Hot air sterilizer)*.
 - Menggunakan suhu 160-180 °C selama 1,5 – 2 jam dengan sistem udara statis.
 - Jika digunakan oven dengan sirkulasi udara panas, waktu lebih cepat, diperlukan waktu setengahnya karena aliran udara panas ke alat-alat gelas lebih efisien (setengahnya).
- § Untuk sterilisasi alat-alat gelas (erlenmeyer, petridish dsb) juga untuk kapas, kain, kertas dan sebagainya.
- § Kurang efektif untuk membunuh jasad renik
- § **Mekanisme kematian bakteri dengan metode ini :**
Pemanasan kering menyebabkan dehidrasi sel dan oksidasi komponen – komponen di dalam sel

h. Radiasi (Penyinaran)

Berbagai sinar radioaktif dapat mengakibatkan kematian sel-sel mikroorganisme.

1. Sinar matahari

Sinar matahari yang dipancarkan langsung pada sel vegetatif jasad renik dapat menyebabkan kematian sel tersebut, sedangkan sporanya biasanya lebih tahan. Aktivitas bakterisidal dari sinar matahari tersebut disebabkan oleh bagian ultraviolet dari spektrum sinar.

2. Sinar Ultra violet dari lampu uap merkuri

Sering digunakan untuk sterilisasi ruangan inokulasi di laboratorium atau ruang pengolahan. *Radiasi ultra violet* menyebabkan kesalahan dalam replikasi DNA dan mempunyai aktivitas mutagenik pada sel hidup.

Sinar ultra violet mempunyai panjang gelombang 15-390 nm, pada panjang gelombang 265 nm, sinar ini berefek bakterisidal kuat.

3. Radiasi Ionisasi

Adalah radiasi yang mengandung energi jauh lebih tinggi daripada sinar ultraviolet dan mempunyai daya desinfektan yang lebih kuat.

Contoh :

- Sinar x memiliki daya penetrasi lebih besar dibanding sinar ultraviolet.
- Sinar γ mempunyai daya penetrasi lebih besar dibanding sinar x, sehingga sering digunakan untuk mensterilkan benda yang tebal (misalnya bungkus alat-alat kedokteran dan paket makanan).
- Sinar katoda sering digunakan untuk menghapus hama pada suhu kamar terhadap barang-barang yang telah dibungkus.
- Sinar γ dari kobalt 60, digunakan secara komersial untuk sterilisasi alat-alat Kedokteran dan laboratorium.

Jika digunakan untuk mensterilkan makanan, radiasi ionisasi dapat mempengaruhi citarasa makanan. Jika digunakan untuk sterilisasi obat-obatan, hormon atau enzim mungkin dapat mempengaruhi potensi atau aktivitasnya.

Satuan internasional (SI) dalam radiasi :

- a. Unit penyerapan (absorpsi)
- b. Unit radioaktif

i. Penyaringan (Filtrasi)

Sterilisasi secara mekanik dilakukan dengan cara menyaring bahan yang akan disterilkan. Cara ini digunakan bagi bahan-bahan cair yang tidak tahan panas, misalnya serum darah, vaksin, toksin atau medium yang mengandung zat tidak tahan terhadap pemanasan. Disamping itu cara ini digunakan pula bagi bahan-bahan yang mengandung zat-zat yang tidak stabil, misalnya larutan garam fisiologis, natrium bikarbonat dan lain-lain.

Bahan-bahan cair yang sangat peka terhadap pemanasan (serum, darah, toksin, dll.) atau yang tidak tahan pemanasan tinggi (medium yang mengandung senyawa gula) tidak dapat disterilkan

dengan pemanasan, maka dipakai alat *Filter bakteri (Penyaring bakteri)*.

Beberapa jenis Filter Bakteri :

1. Berkefeld filter.

Elemen penyaring pada alat ini terbuat dari tanah diatoma, dengan tingkat porositas : kasar (viel = v), normal (N) dan halus (wenig = w). Yang biasa digunakan adalah porositas N dan W.

2. Chamberland filter.

Elemen penyaring pada alat ini adalah porselin yang tidak dilapisi dengan email. Porositasnya bervariasi yakni : L1, L2, L3 dan seterusnya. Yang biasa digunakan untuk penyaring bakteri adalah L3.

3. Seitz filter (Ent Keimung filter/ filter asbes).

Merupakan alat penyaring dari "Stainless steel" yang dilengkapi dengan penyaring asbes-selulosa yang dapat diganti

4. Sintered glass filter / ultra filter dll.

Prinsip sterilisasi dengan penyaringan (Filtrasi) :

- Untuk penyaringan dengan filter bakteri diperlukan tekanan positif tertentu (20 – 30 mm Hg) dengan menggunakan pompa vacum.
- Tekanan 20 – 30 mm Hg dapat mempercepat penyaringan tanpa menyebabkan buih.

6.4 STERILISASI SECARA KIMIA

Desinfektan dan Antiseptik

Adalah bahan kimia menimbulkan pengaruh yang lebih selektif terhadap jasad renik dibandingkan dengan perlakuan fisik seperti panas dan radiasi.

Dalam memilih desinfektan dan antiseptik perlu diperhatikan hal-hal sebagai berikut :

a. Sifat Mikrosidal (membunuh jasad renik)

- Bentuk spora lebih tahan daripada bentuk vegetatif.

- Beberapa desinfektan (halogen, merkurioklorida, formalin dan etilen oksida) → efektif terhadap spora.
- Mycobacteria merupakan bentuk vegetatif yang paling tahan dibandingkan sel vegetatif bakteri lainnya. Untuk membunuh Mycobacteria digunakan alkohol dan fenol.
- Virus lebih tahan daripada bentuk vegetatif dan dapat dibunuh dengan Halogen, oksidan dan formalin.
- Komponen kimia yang bersifat membunuh jasad renik disebut mempunyai sifat bakterisidal (membunuh bakteri) atau fungisidal (membunuh fungi).

b. Sifat Mikrostatik (menghambat pertumbuhan jasad renik)

Beberapa komponen kimia pada konsentrasi rendah tidak dapat membunuh jasad renik, tetapi hanya menghambat pertumbuhannya, misalnya senyawa tertentu yang terdapat pada rempah-rempah. Komponen tersebut disebut mempunyai sifat bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) atau fungistatik (menghambat pertumbuhan fungi). Komponen kimia yang bersifat membunuh lebih baik daripada yang bersifat menghambat.

c. Kecepatan penghambatan.

Komponen kimia mempunyai kecepatan membunuh/menghambat yang berbeda-beda terhadap jasad renik yaitu :

1. Cepat
2. Hanya efektif setelah beberapa menit/ jam.

Sel yang sedang tumbuh/ berkembang biak lebih sensitif dan mudah dibunuh dibandingkan sel dalam keadaan istirahat.

d. Sifat lain :

Pertimbangan untuk pemilihan desinfektan :

- Harga tidak mahal.
- Aktivitas tetap dalam waktu lama.
- Larut dalam air dan stabil dalam larutan.
- Tidak toksik dan tidak mengiritasi kulit.

- Tidak meninggalkan warna.

Beberapa komponen organik dapat menghambat kerja disinfektan, misalnya halogen, garam merkuri dan detergen kationik dapat menghambat kerja disinfektan. Sedangkan sabun dan detergen anionik membantu penyerapan.

6.5 KOEFISIEN FENOL SUATU DESINFEKTAN

§ Koefisien fenol suatu disinfektan adalah kemampuan suatu disinfektan dalam membunuh bakteri dibandingkan fenol.

§ Jika suatu disinfektan mempunyai koefisien fenol 40, berarti daya membunuhnya 40 kali dibandingkan fenol.

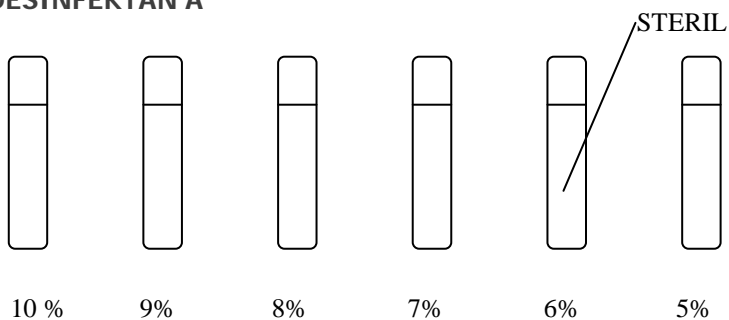
§ Untuk pengujian biasanya digunakan 2 jenis bakteri:

- Bakteri gram negatif : *Salmonella typhi*.
- Bakteri gram positif : *Staphylococcus aureus*.

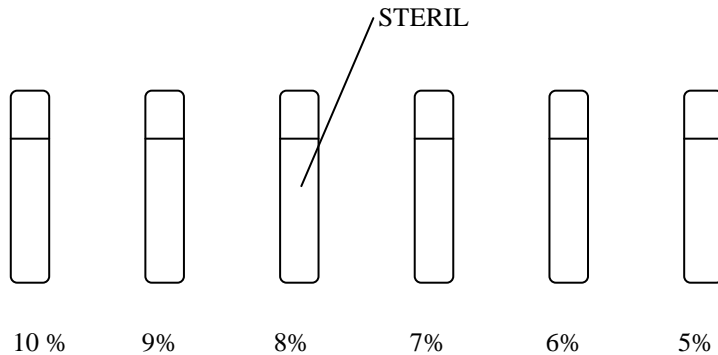
- **Cara pengujian :**

Dengan mengencerkan suatu kultur cair bakteri sebanyak 1 : 10 dengan disinfektan yang akan diuji pada konsentrasi berbeda. Yang disebut titik akhir adalah konsentrasi terendah yang menghasilkan kultur steril setelah diinkubasikan selama 10 menit pada suhu 20 C.

DESINFEKTAN A



FENOL



Kultur steril : desinfektan A 6 % setara dengan fenol konsentrasi 8 %

Jadi koefisien fenol desinfektan A adalah 1,3

6.6 MACAM- MACAM DESINFEKTAN

Desinfektan dapat dikelompokkan atas delapan grup sebagai berikut :

1. Grup alkohol larut

- Contoh : etanol, isopropil, alkohol.
- Cara Kerja : Koagulasi protein dan melarutkan membran.
- Konsentrasi : 70 – 90 %
- Keuntungan : Bakterisidal cepat, tuberkulosidal.
- Kelemahan : tidak membunuh spora, menyebabkan korosi metal kecuali jika ditambahkan komponen pereduksi (2% Na-nitrit), mengeringkan kulit.

2. Grup gas sterilisasi

- Contoh : etilen oksida
- Cara Kerja : substitusi grup alkil di dalam sel dengan atom hidrogen yang labil.
- Waktu : 4 – 18 jam.
- Keuntungan : tidak berbahaya untuk kebanyakan bahan, mensterilkan bahan, digunakan untuk bahan yang tidak tahan panas.

Kelemahan : membutuhkan peralatan khusus.

3. Grup gas disinfektan

Contoh : formaldehida

Cara Kerja : seperti etilen oksida.

Konsentrasi : larutan jenuh atau dalam bentuk gas.

Keuntungan : Bakterisidal cepat, tuber kulosidal.

Kelemahan : membunuh spora, tidak korosif, digunakan untuk bahan yang tidak panas.

4. Grup halogen

Contoh : khlorin, yodium.

Cara Kerja : oksidasi grup sulfhidril bebas.

Konsentrasi : hipokhlorit – konsentrasi tertinggi HClO (warexin) – larutan 1,5% yodium tinkur – konsentrasi tertinggi.

Keuntungan : khlorin - tuberkolosidal.

Yodium - pencuci dan desinfektan, tidak meninggalkan warna, meninggalkan residu anti bakteri, yodium tinkur bersifat tuberkolosidal.

Kelemahan : khlorin - memutihkan bahan, korosi logam, tidak stabil didalam air sadah, larutan harus segar.

Yodium - yodium tinktur menimbulkan warna dan iritasi kulit, iodofor tidak stabil, aktivitasnya hilang didalam air sadah, korosif terhadap logam, menyebabkan pengeringan kulit.

5. Grup fenol

Contoh : kreosol, fenol semi-sintetis, lisol.

Cara Kerja : Koagulasi protein, menyebabkan kebocoran membran sel.

Konsentrasi : kreosol - 2%

Lisol - 1%

Keuntungan : aktivitasnya tidak hilang oleh bahan organik, sabun atau air sadah, meninggalkan efek residu jika mengering.

Kelemahan : kreosol harus digunakan di dalam air lunak.

6. Grup detergen kationik (amonium quaternar)

Cara Kerja : pengerutan membran sel dan merusak permeabilitasnya.

Konsentrasi : larutan 1/1000 – 1/5000

Keuntungan : tidak berbau.

Kelemahan : tidak bersifat tuberkulosidal, aktivitas virisidal terbatas, harus dilarutkan kedalam air destilata, aktivitasnya hilang oleh protein, sabun dan serat selulosa, aktivitas bakterisidalnya lemah sehingga harus di kombinasi dengan grup fenol.

7. Grup detergen Anionik (aditif sabun atau detergen)

Contoh : heksaklorfen (G-11), tetrakhlorsalisil anilida.

Cara Kerja : heksaklorfen - septisol 2%, phisoheks 3 %.

Keuntungan : aktivitas antar bakteri lama, baik digunakan sebagai pencuci.

Kelemahan : tidak bersifat sporisidal maupun tuberkulosidal, cara kerja lambat, beracun jika digunakan terus - menerus dan diserap di dalam tubuh.

8. Desinfektan lain-lain.

Garam : komponen merkuri organik seperti merkurokrom dan tiomersal bersifat kurang beracun dibandingkan komponen merkuri lainnya, tetapi aktivitas bakterisidalnya lemah.

Alkali : Larutan NaOH sering digunakan dalam kedokteran veteriner untuk disinfektan kandang.

Hidrogen peroksida	: dalam konsentrasi 3% digunakan untuk mencuci dan mendisinfeksi luka.
Sabun	: Aktivitas bakterisidalnya lemah, tetapi efektif untuk mencuci/
Komponen	
Biguanida	: Misalnya khloheksidin, bersifat bakterisidal tetapi tidak efektif terhadap virus, spora, dan mikrobakteri. Biasanya di campur dengan detergen kationik.
Dialdehida	: spektrum aktivitasnya paling luas, yaitu bersifat bakterisidal, virisidal, fungisidal, dan sporosidal. Tersedia dalam bentuk asam yang harus diaktivasi dengan penambahan natrium karbonat (menaikkan pH) supaya aktivitasnya maksimum. Dalam keadaan aktif tahan sampai 2 minggu. Kelemahannya adalah beracun terhadap kulit dan harganya mahal.

6.7 ZAT ANTIMIKROBA

Zat antimikrobia *adalah* zat yang merintangi pertumbuhan dan metabolisme mikroba (antiseptik, desinfektan, antibiotik dsb.).

Zat antimikrobia dikelompokkan menjadi dua ;

1. Antibakteri (efektif terhadap bakteri)
2. Antifungi (efektif terhadap fungi)

Faktor-faktor yang mempengaruhi laju hambatan atau kerusakan mikroorganisme oleh antimikroba:

1. Konsentrasi, intensitas dan jenis mikroba.
2. Jumlah mikroorganisme.

Untuk membunuh populasi mikroorganisme yang lebih banyak perlu waktu.

3. Suhu
Makin tinggi suhu, kerja desinfektan makin efektif.
4. Species mikroorganisme
Bentuk vegetatif lebih mudah terbunuh dibandingkan bentuk spora.
5. Adanya bahan organik yang dapat mengurangi efektifitas zat antimikroba dengan cara membuat tidak aktif lagi/ melindungi mikroorganisme dari serangan zat tersebut.

Mekanisme Kerja Zat Antimikroba

1. Perusakan dinding sel

Susunan dinding sel dapat rusak dengan jalan merintangi pembentukan dinding sel atau menyebabkan perubahan pada dinding sel.

2. Perubahan permeabilitas sel

Membran sitoplasma menahan bahan-bahan tertentu di dalam sel dan mengatur pemasukkan dan pengeluaran bahan-bahan lainnya, memelihara keseluruhan susunan sel.

Perusakan membran sitoplasma berakibat dapat merintangi pertumbuhan sel, sehingga dapat menyebabkan **kematian sel**.

3. Perubahan molekul protein dan asam nukleinat (Denaturasi protein).

Kehidupan sel mikroba tergantung pada pemeliharaan molekul protein dan asam nukleinat.

Desinfektan dapat menyebabkan :

1. Koagulasi protein secara irreversibel
2. Denaturasi bahan-bahan sel penting

4. Merintangi kerja enzim

Dengan merintangi kerja enzim sehingga sintesa protein dan asam nukleinat dihambat.

BAB 7

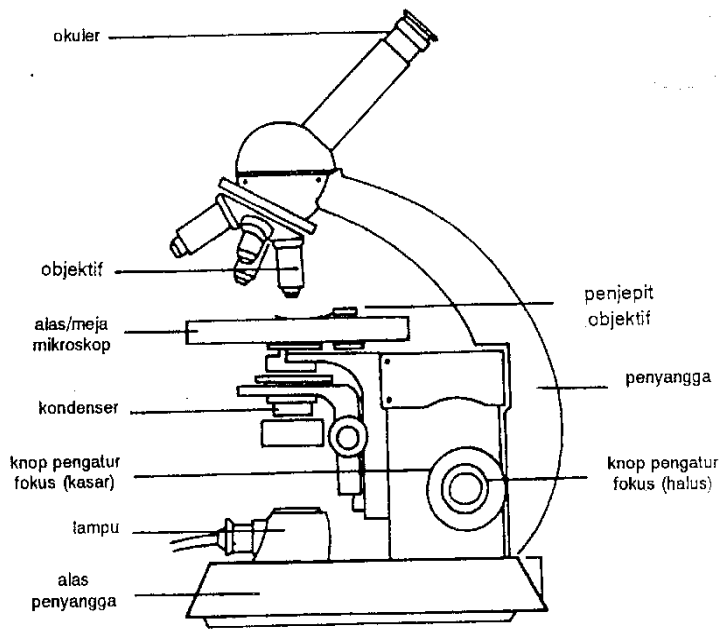
MIKROSKOP

7.1 PENDAHULUAN

Mikroskop adalah instrumen yang paling banyak digunakan dan paling bermanfaat di laboratorium mikroskopi. Dengan alat ini diperoleh perbesaran sehingga memungkinkan untuk melihat organisme dan struktur yang tak tampak dengan mata bugil. Mikroskop memungkinkan perbesaran dalam kisaran luas, dari seratus kali sampai ratusan ribu kali.

Anton van Leeuwenhoek adalah seorang yang dalam tahun 1675 diakui sebagai orang yang pertama kali melihat bakteri menggunakan suatu instrumen optik yang terdiri dari lensa-lensa bikonveks. Leeuwenhoek pada waktu itu berhasil menemukan bakteri di dalam berbagai cairan di antaranya cairan tubuh, air, ekstrak lada, dan bir. Penemuan mikroskop pada saat itu membuka peluang untuk dilakukannya penelitian-penelitian mengenai terjadinya proses fermentasi dan penemuan jasad renik penyebab penyakit.

Bagian-bagian mikroskop sederhana dapat dilihat pada Gambar 7.1. Berbagai jenis mikroskop dengan tingkat pembesaran maksimum dan ciri-ciri masing-masing dapat dilihat pada Tabel 7.1.



Gambar 7.1. Bagian-bagian Mikroskop Sederhana (Brock, 1974)

Kedua kategori mikroskop yang ada ialah mikroskop cahaya (atau optis) dan mikroskop elektron. Keduanya berbeda dalam prinsip yang mendasari perbesaran. Mikroskop cahaya yang kesemuanya menggunakan sistem lensa optik, mencakup mikroskop (1) medan-terang, (2) medan-gelap, (3) fluoresensi, dan (4) kontras-fase. Mikroskop elektron menggunakan berkas elektron sebagai pengganti gelombang cahaya untuk memperoleh bayangan yang diperbesar.

7.2 LENSEA DAN PEMBESARAN

Pembesaran oleh suatu mikroskop merupakan hasil dari dua sistem lensa yaitu **lensa objektif** yang terletak di dekat objek, dan **lensa okuler** (*eyepiece lens*) yang terletak di bagian atas di dekat mata orang yang melihatnya seperti terlihat pada Gambar 7.2, lensa objektif bekerja mengatur fokus sinar lampu pada objek yang ditempatkan di belakang titik fokal F_1 dan memperbesar objek sehingga menghasilkan

bayangan nyata yang diproyeksikan pada bidang fokal dari lensa okuler. Bayangan nyata yang terletak di depan titik fokal F1 dari lensa okuler diperbesar oleh lensa okuler sehingga membentuk **bayangan maya** (bayangan semu) yang dapat dilihat oleh mata. Dengan demikian, total pembesaran merupakan hasil dari pembesaran lensa objektif dan lensa okuler. Lensa objektif terdiri dari kombinasi lensa konveks dan lensa konkaf.

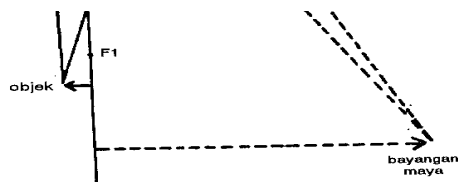
Tabel 7.2. Perbedaan berbagai jenis mikroskop

Jenis mikroskop	Pembesaran maksimum	Penampakan objek	penggunaan
Medan terang (<i>Bright-field</i>)	1000 – 2000	Objek diwarnai atau tidak diwarnai	Melihat morfologi, bakteri, khamir, kapang, ganggang, dan protozoa
Kontras (<i>Fase contrast</i>)	1000 – 2000	Berbagai tingkat penggelapan/ kontras	Melihat struktur jasad renik yang berukuran relatif besar (sel khamir, ganggang, protozoa beberapa bakteri)
Medan gelap (<i>dark field</i>)	1000 – 2000	Objek terang atau bersinar dengan latar belakang	Melihat morfologi gelap jasad renik spesifik, misalnya spirokhita
Ultraviolet	1000 – 2000	Biasanya tidak dilihat langsung, tetapi dipotret atau ditangkap pada layar TV	Membedakan struktur sel berdasarkan daya serapnya terhadap sinar UV
Fluoresen	1000 – 2000	Terang dan berwarna fluoresen	Teknik diagnosis untuk komponen fluoresen atau sel yang dapat dibuat menjadi fluoresen
Elektron	200 000- 400 000	Dilihat pada lempeng fotografik	Mengamati virus dan struktur sel yang sangat kecil (pili, DNA, dinding sel, membran, dsb)

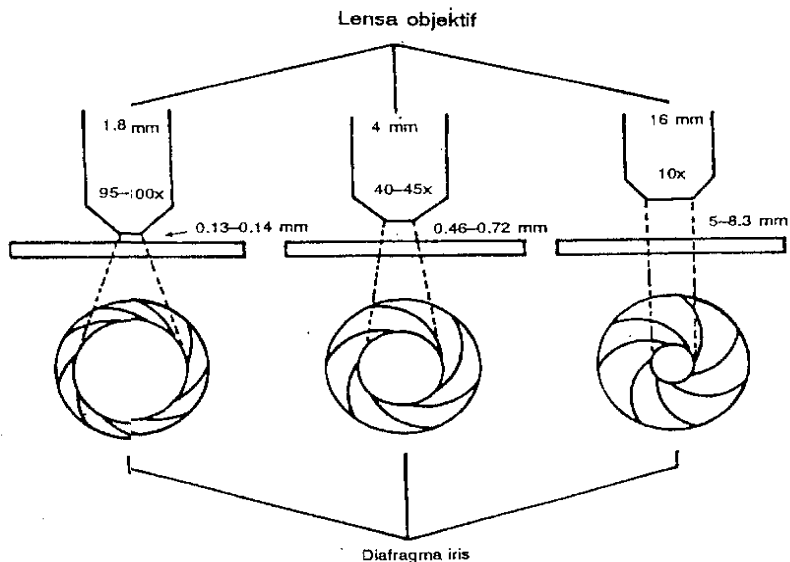
Untuk memperoleh berbagai tingkat pembesaran, setiap mikroskop pada umumnya dilengkapi dengan tiga buah lensa objektif yang dipasang pada *nosepiece* yang dapat diputar, yaitu terdiri dari :

1. Lensa objektif **berkekuatan rendah** (*low power*, 16 mm) yang ditandai dengan angka 10x pada bagian luarnya dan mempunyai jarak kerja 5-8.3 mm.
2. Lensa objektif **berkekuatan tinggi** (*high dry*, 4 mm) yang ditandai dengan angka 40x, 43x, 44x, atau 45x, dan mempunyai jarak kerja 0.46-0.72 mm.
3. Lensa objektif **minyak imersi** (*immersion oil*, 1,8 mm) yang ditandai dengan angka 95x, 97x, atau 100x, dan mempunyai jarak kerja 0.13-0.14 mm.

Untuk mengatur fokus sistem lensa pada objek, digunakan dua buah knop yang dapat diputar yaitu knop pengatur kasar yang mengatur jarak antara lensa dengan objek, dan knop pengatur halus yang menggerakkan tabung penyangga lensa secara halus sehingga menghasilkan fokus yang tepat.



Gambar 7.2. Pembentukan bayangan oleh lensa objektif dan okuler pada mikroskop



Gambar 7.3. Hubungan antara jarak kerja lensa objektif dengan pengaturan diafragma iris.

Angka 16 mm, 4 mm, dan 1.8 mm menunjukkan panjang focal pada masing-masing lensa, yaitu jarak antara lensa dengan titik focal lensa (F1 dan F2). Gambar 7.3 menunjukkan hubungan antara jarak kerja lensa objektif dengan pengaturan diafragma iris. Semakin pendek jarak kerja lensa, diafragma akan semakin terbuka. Jika lensa okuler mempunyai pembesaran 10x, maka total pembesaran harus dikalikan sepuluh kalinya, sehingga total pembesaran menggunakan lensa berkekuatan rendah menjadi 100x, dengan lensa berkekuatan tinggi pembesarannya adalah 400x, 430x, 440x atau 450, sedangkan pembesaran dengan lensa minyak imersi menjadi 950x, 970x atau 1000x.

7.3 RESOLVING POWER

Resolving power adalah kemampuan dari suatu lensa untuk melihat sebuah benda sebagai objek yang terpisah secara jelas. Sebagai contoh, *resolving power* mata manusia yang normal pada jarak 25 cm adalah 0.1 mm (100 mikron). Benda yang berukuran lebih kecil dari 100

mikron tidak dapat dilihat oleh mata secara terpisah tanpa menggunakan bantuan alat pembesar. Sifat *resolving power* lensa dipengaruhi oleh panjang gelombang sinar dan *numerical aperture* (NA) dari lensa. NA merupakan fungsi dari indeks refraksi dan sudut apertur lensa objektif :

$$NA = n \sin \theta \text{ dan } \theta = \frac{1}{2} \alpha$$

Dimana : n = indeks refraksi

α = sudut berkas sinar yang masuk ke lensa objektif

Resolving power = diameter objek terkecil yang terlihat

$$= \frac{\text{panjang gelombang}}{2NA}$$

Resolving power berbanding terbalik dengan resolusi. Oleh karena itu, resolusi dapat dipertinggi dengan cara menurunkan *resolving power* yaitu menggunakan sinar dengan panjang gelombang yang lebih pendek, dan menaikkan NA dengan cara mempertinggi indeks refraksi antara objek dan lensa objektif, atau menaikkan sudut apertur (α) lensa objektif. Oleh karena itu, objek terkecil yang dapat dilihat melalui suatu mikroskop sederhana tergantung dari panjang gelombang terpendek dari sinar tampak (*visible*) dan lensa objektif yang mempunyai NA maksimum. Salah satu cara lainnya untuk menaikkan NA lensa adalah dengan menggunakan suatu kondenser. Kondenser yang baik akan menghasilkan *resolving power* dengan persamaan sebagai berikut :

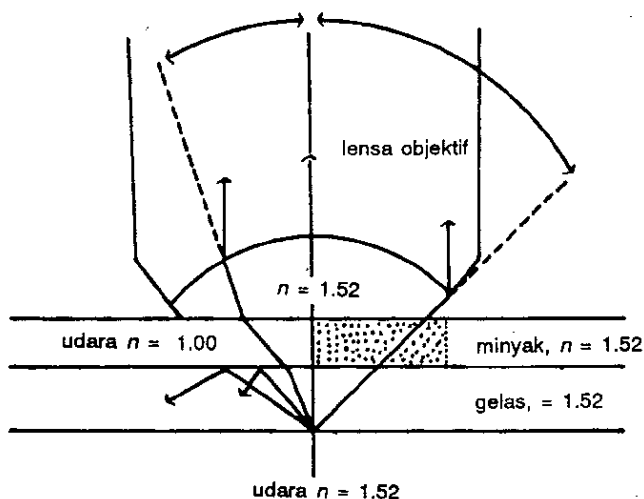
$$Resolving\ power = \frac{\text{panjang gelombang}}{2NA}$$

Sebagai contoh, lensa kering mempunyai NA kurang dari 1.0, sedangkan lensa minyak imersi mempunyai NA lebih besar dari 1.0 yaitu 1.2 – 1.4, dan yang biasa digunakan misalnya mempunyai NA 1.25. Mata manusia paling sensitif terhadap warna hijau yang mempunyai panjang gelombang 500 nm. Oleh karena itu, *resolving power* menggunakan lensa minyak imersi dapat dihitung sebagai berikut :

$$\text{Resolving power} = \frac{500 \text{ nm}}{2 \times 1.25} \times 200 \text{ nm} = 0.2 \text{ mikron}$$

Jadi, objek terkecil yang dapat dilihat dengan mikroskop biasa adalah 0.2 mikron. Pembesaran yang lebih tinggi untuk dapat melihat objek yang lebih kecil dari *resolving power* tidak akan berguna karena bayangan yang terbentuk akan terlihat kabur.

Udara mempunyai indeks refraksi $n = 1$, yaitu lebih kecil daripada indeks refraksi gelas objek. Oleh karena itu, sinar lampu yang datang melalui gelas objek ke udara akan direfraksi atau dibelokkan. Sinar yang hilang ini menurunkan NA dan resolusi lensa objektif. Jika di antara gelas objek dan lensa objektif diberi minyak imersi yang mempunyai indeks refraksi $n = 1.5$, yaitu sama dengan gelas *crown* yang digunakan untuk membuat lensa, kehilangan sinar dapat dicegah. Akibatnya, resolusi akan lebih tinggi dan bayangan dapat lebih jelas. Akibat lain dari penggunaan minyak imersi adalah panjang fokal menjadi diperpendek sehingga sudut apertur semakin besar. Oleh karena itu jarak antara lensa objektif dan objek harus diperpendek. Jumlah sinar yang tidak dapat ditangkap oleh lensa objektif.



Gambar 7.4 Cara kerja lensa minyak imersi dalam mikroskop sederhana (Pelczar dan Reid, 1972)

Panjang gelombang sinar yang digunakan dalam suatu mikroskop pada umumnya tetap, oleh karena itu resolusi terhadap suatu objek pada umumnya hanya dipengaruhi oleh NA lensa obyektif yang digunakan, di mana semakin tinggi NA semakin besar resolusinya atau semakin kecil objek yang dapat dilihat.

7.4 ILUMINASI

Di samping lensa objektif dan okuler, dua elemen lainnya yang penting dalam mikroskop adalah lampu dan lensa kondenser. Walaupun sebagai sumber sinar untuk mikroskop dapat digunakan sinar matahari, tetapi biasanya digunakan sinar lampu tungsten karena warna, suhu, dan intensitasnya bersifat stabil dan dapat dikontrol dengan mudah. Adanya lampu dan kondenser akan mengatur iluminasi dari objek secara tepat. Besarnya sinar yang melalui lensa objektif berbeda untuk setiap jenis lensa. Jika pembesaran lensa objektif naik, jarak kerja lensa menurun, dan sudut apertur objektif bertambah. Oleh karena itu, dengan bertambahnya pembesaran, bertambah banyak sinar yang harus masuk ke lensa objektif. Besarnya sinar yang masuk diatur oleh diafragma iris yang terletak di antara kondenser dan lensa. Dengan lensa objektif berkekuatan rendah dan tinggi, diafragma iris tidak terbuka penuh karena pada pembesaran ini objek akan terlihat jelas jika sinar tidak terlalu pekat. Tetapi jika digunakan lensa objektif minyak imersi yang mempunyai pembesaran 95x atau lebih, maka jarak kerja adalah yang terpendek, dan diafragma iris akan lebih terbuka.

7.5 MIKROSKOP KONTRAS

Mikroskop kontras diciptakan pertama kalinya oleh **Fritz Zernike** yang mendapatkan hadiah Nobel dalam tahun 1953 untuk penemuannya tersebut. Mikroskop ini dapat digunakan untuk melihat sel-sel berukuran kecil tanpa diberi pewarnaan.

Pada mikroskop kontras, sumber iluminasi berupa seberkas sinar yang datang melalui suatu cincin di dalam lensa kondenser. Pada lensa objektif dipasang suatu cincin fase yang akan mengubah fase sinar yang

melaluinya sebanyak seperempat dari panjang gelombangnya. Sinar yang telah melewati objek dan tidak dibelokkan akan menembus cincin fase dan terlihat oleh mata sebagai sinar putih yang normal. Sinar yang melalui objek dengan indeks refraksi berbeda dengan medium di sekelilingnya akan dibelokkan dan mempunyai berkas sinar yang lebih panjang. Oleh karena itu, akan tiba pada okuler di luar fase. Karena perbedaan indeks refraksi antara sel dengan medium disekelilingnya, maka bayangan dapat terlihat secara lebih kontras. Pada kebanyakan mikroskop kontras, bayangan terlihat gelap dengan latar belakang terang.

7.6 MIKROSKOP MEDAN GELAP

Mikroskop medan gelap adalah suatu mikroskop dimana sistem kondensernya telah diubah sedemikian rupa supaya sinar yang datang dapat mencapai objek dari arah samping, sehingga sinar yang dibelokkan secara refleksi dan refraksi oleh objek yang akan terlihat. Sinar-sinar yang menyebar tersebut akan melalui lensa objektif, sehingga objek yang terlihat terang dengan latar belakang gelap. Penggunaan mikroskop medan gelap memungkinkan untuk melihat partikel atau sel yang ukurannya di luar batas resolusi mikroskop sederhana, misalnya dalam mengamati sel-sel berukuran kecil seperti *Treponema pallidum*, yaitu spirokhita yang menyebabkan penyakit sipilis yang tidak dapat dilihat dengan mikroskop biasa.

7.7 MIKROSKOP ULTRAVIOLET

Mikroskop ultraviolet dapat menghasilkan resolusi dan pembesaran yang lebih tinggi dibandingkan dengan mikroskop biasa. Hal ini disebabkan sinar UV mempunyai panjang gelombang yang lebih pendek yaitu 180 – 400 nm (biasanya digunakan 230 – 350 nm), sehingga akan menghasilkan resolusi sekitar dua kali lebih tinggi daripada mikroskop biasa. Karena sinar UV merupakan sinar tidak tampak, maka bayangan baru dapat dilihat dengan mencatatnya pada suatu lempeng fotografik menggunakan tabung pengubah bayangan,

atau dengan memperlihatkan pada layar televisi setelah ditangkap oleh suatu tabung foto atau kamera televisi yang sensitif terhadap sinar UV.

7.8 MIKROSKOP FLUORESEN

Beberapa senyawa kimia dapat menyerap energi dari gelombang ultraviolet dan mengeluarkannya sebagai gelombang tampak dengan panjang gelombang yang lebih tinggi. Senyawa yang mempunyai sifat demikian disebut bersifat fluoresen. Mikroskop fluoresen dapat melihat suatu objek yang bersifat fluoresen yang disebabkan adanya senyawa fluoresen alami, atau objek tersebut telah diberi perlakuan dengan zat warna fluoresen. Pada mikroskop fluoresen, sinar yang dikeluarkan oleh objek dilewatkan melalui suatu penyaring yang ditempatkan di antara lensa objektif dan okuler, sehingga hanya sinar fluoresen yang akan terlihat.

Teknik mikroskop fluoresen sering digunakan untuk mengamati bakteri tuberkulosa dengan menggunakan zat warna fluoresen auramin O. Bakteri tuberkulosa akan mengikat zat warna tersebut dan terlihat terang dengan latar belakang gelap. Kebanyakan bakteri lainnya tidak dapat mengikat zat warna auramin O.

7.9 MIKROSKOP ELEKTRON

Mikroskop elektron berbeda dengan mikroskop biasa, karena digunakan elektron sebagai pengganti sinar, sedangkan sebagai lensa digunakan **elektromagnet**. Seluruh sistem dalam mikroskop elektron berpotensi pada keadaan vakum tinggi (Gambar 3.7). Mikroskop elektron mempunyai resolusi yang sangat tinggi, di mana objek yang dapat terlihat mencapai ukuran 0.001 mikron atau 1 mm. Objek yang dapat dilihat melalui mikroskop elektron harus tipis sekali. Sel-sel yang terlalu tebal harus diiris tipis menggunakan **ultramikrotom** setelah terlebih dahulu dikeringkan di dalam pelatur organik dan dicetak di dalam plastik untuk memudahkan pengirisan. Untuk mendapatkan kontras yang baik, objek yang telah diiris-iris diberi zat warna khusus untuk mikroskop elektron yaitu asam osmat, permanganat, uranium, lantanum, atau

plumbum (Pb). Senyawa-senyawa ini terdiri dari atom-atom yang mempunyai berat atom tinggi. Oleh karena itu, dapat menyebarkan elektron dengan baik. Struktur sel yang diberi pewarna tersebut menjadi lebih kontras dan mudah dilihat.

Cara lainnya untuk memperoleh kontras yang baik pada mikroskop elektron adalah dengan cara pewarnaan negatif, dengan prinsip yang sama seperti pewarnaan negatif pada mikroskop biasa.

Komponen yang digunakan adalah yang tidak dapat menembus struktur tetapi menyebarkan elektron. Cara-cara lainnya misalnya dengan teknik replika karbon untuk mengamati permukaan sel, dan *freezeetching*.

Suatu mikroskop yang telah dikembangkan untuk mengamati struktur permukaan adalah "*Scanning electron microscope*" (SEM). Objek yang akan diamati mula-mula dilapisi dengan lapisan tipis logam berat seperti emas. Berkas elektron diarahkan pada objek dan ditatapkan (scan) bolak-balik. Elektron yang disebarkan oleh logam berat tersebut dikumpulkan dan akan mengaktifkan layar untuk membentuk bayangan. Dengan alat SEM ini hanya permukaan objek yang dapat dilihat, dan pembesarannya sangat bervariasi yaitu dari 15.000 sampai kira-kira 100.000 kali.

BAB 8

ANALISIS KUANTITATIF MIKROBIOLOGI PADA LIMBAH PADAT

8.1 PENDAHULUAN

Analisis kuantitatif mikrobiologi pada bahan pangan penting dilakukan untuk mengetahui mutu bahan pangan dan menghitung proses pengawetan yang akan diterapkan pada bahan pangan tersebut. Beberapa cara dapat digunakan untuk menghitung atau mengukur jumlah jasad renik di dalam suatu suspensi atau bahan, yang dapat dibedakan atas beberapa kelompok yaitu :

- A. Perhitungan jumlah sel
 - 1. Hitungan mikroskopik
 - 2. Hitungan cawan
 - 3. MPN (*Most Probable Number*)
- B. Perhitungan massa sel secara langsung
 - 1. Volumetrik
 - 2. Gravimetrik
 - 3. Kekeruhan (turbidimetri)
- C. Perhitungan massa sel secara tidak langsung
 - 1. Analisis komponen sel (protein, DNA, A IP, dan sebagainya)
 - 2. Analisis produk katabolisme (metabolit primer atau sekunder,

panas)

3. Analisis konsumsi nutrien (karbon, nitrogen, oksigen, asam amino, mineral, dan sebagainya).

Perhitungan massa sel secara langsung maupun tidak langsung jarang digunakan dalam uji mikrobiologi bahan pangan, tetapi sering digunakan untuk mengukur pertumbuhan sel selama proses fermentasi. Dalam perhitungan massa sel secara langsung, jumlah sel jasad renik dapat dihitung jika medium pertumbuhannya tidak mengganggu pengukuran. Sebagai contoh, dalam metode volumetrik dan gravimetrik, pengukuran volume dan berat sel dilakukan dengan terlebih dahulu menyaring sel-sel jasad renik. Oleh karena itu, jika substrat tempat tumbuhnya banyak mengandung padatan, misalnya bahan pangan, sel jasad renik tidak dapat diukur menggunakan metode volumetrik, gravimetrik, maupun turbidimetri. Perhitungan massa sel secara tidak langsung sering digunakan dalam mengamati pertumbuhan sel selama proses fermentasi, di mana komposisi substrat atau bahan yang difermentasi dapat diamati dan diukur dengan teliti.

Dalam bab ini akan dijelaskan cara perhitungan jumlah sel yang umum digunakan dalam uji mikrobiologi bahan pangan, yaitu hitungan mikroskopik (*Direct Microscopic Counts*), hitungan cawan (*Total Plate Counts*) dan MPN (*Most Probable Number*). Cara-cara perhitungan massa sel secara langsung dan tidak langsung dapat dilihat pada buku-buku mengenai Mikrobiologi Dasar, Mikrobiologi Umum, atau Fermentasi.

8.2 HITUNGAN MIKROSKOPIK

a. Metode Breed

Hitungan mikroskopik dengan metode Breed sering digunakan untuk menganalisis susu yang mengandung bakteri dalam jumlah tinggi, misalnya susu yang diperoleh dari sapi yang terkena mastitis yaitu suatu penyakit infeksi yang menyerang kelenjar susu sapi. Cara ini merupakan suatu cara cepat, yaitu menghitung bakteri secara langsung menggunakan mikroskop. Cara ini mempunyai kelemahan yaitu tidak dapat dilakukan terhadap susu yang telah dipasteurisasi karena secara

mikroskopik tidak dapat dibedakan antara sel-sel bakteri yang masih hidup atau yang telah mati karena perlakuan pasteurisasi.

Dalam metode ini, luas areal pandang (*field*) mikroskop yang akan digunakan harus dihitung terlebih dahulu. Hal ini dapat dilakukan dengan cara mengukur diameter areal pandang menggunakan mikrometer yang dilihat melalui lensa minyak imersi.

Untuk menghitung jumlah bakteri di dalam susu, sebanyak 0.01 ml susu dipipet dengan pipet Breed dan disebarkan di atas gelas objek sehingga mencapai luas 1 cm², kemudian didiamkan sampai kering, difiksasi, dan diwarnai dengan biru metilen. Rata-rata jumlah bakteri per areal pandang mikroskop ditentukan setelah mengamati 10 sampai 60 kali areal pandang, tergantung dari jumlah bakteri per areal pandang. Sel-sel yang mengumpul dalam kelompok, dihitung jumlah sel yang terdapat di dalam kelompok tersebut, tetapi jika tidak mungkin dapat dihitung sebagai satu kelompok. Hasil perhitungan berdasarkan jumlah kelompok bakteri biasanya lebih mendekati hasil perhitungan jumlah bakteri menggunakan agar cawan. Pada sapi yang terserang mastitis, susunya biasanya mengandung sel-sel darah putih dalam jumlah tinggi. Setelah pewarnaan dengan biru metilen, sel-sel darah putih akan terlihat sebagai sel yang bulat atau berbentuk tidak teratur, berwarna biru dengan ukuran lebih besar daripada bakteri.

Mikrometer yang digunakan adalah mikrometer gelas Objek yang mempunyai skala terkecil 0.01 mm. Areal pandang mikroskop biasanya mempunyai ukuran 14-16 skala atau 0.14-0.16 mm. Beberapa mikroskop mungkin mempunyai ukuran diameter areal pandang lebih dari 0.18 mm.

$$\begin{aligned}\text{Luas areal pandang mikroskop} &= \pi r^2 \text{ mm}^2 \\ &= \frac{\pi \cdot^2}{100} \text{ cm}^2\end{aligned}$$

Di mana r = jari-jari (mm) areal pandang mikroskop. Karena contoh susu yang disebarkan pada gelas objek seluas 1 cm² adalah 0.01 ml, maka:

$$\text{Jumlah susu per areal pandang mikroskop} = \frac{\pi \cdot^2}{100} \times 0.01 \text{ ml}$$

$$= \frac{\pi r^2}{10000} \times \text{ml}$$

Dengan kata lain, untuk mendapatkan 1 ml contoh susu dapat diperoleh dari $10\,000/\pi r^2$ kali areal pandang mikroskop. Angka $10.000/\pi r^2$ disebut juga faktor mikroskopik (FM), dan digunakan untuk mengubah jumlah bakteri per areal pandang mikroskop menjadi jumlah bakteri per ml.

$$\text{Jumlah bakteri per ml} = \frac{10000}{\pi r^2} \times \text{jumlah bakteri per areal pandang}$$

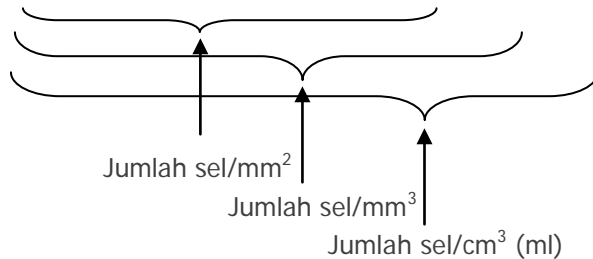
Jumlah bakteri per areal pandang dihitung dari rata-rata pengamatan areal pandang. Jumlah areal pandang yang harus diamati tergantung dari jumlah rata-rata bakteri per areal pandang, dan ditentukan sebagai berikut:

Jumlah rata-rata bakteri per areal pandang	Jumlah areal pandang yang harus diamati
< 0.5	50
0.5 – 1	25
1 – 10	10
10 – 30	5
> 30	Dilaporkan sebagai TBUD (terlalu banyak untuk dihitung)

b. Metode Petroff - Hausser

Dalam metode Petroff-Hausser, hitungan mikroskopik dilakukan dengan pertolongan kotak-kotak skala (**Gambar 8.1**), di mana dalam setiap ukuran skala seluas 1 mm² terdapat 25 buah kotak besar dengan luas 0.04 mm², dan setiap kotak besar terdiri dari 16 kotak kecil. Tinggi contoh yang terletak di antara gelas objek dengan gelas penutup adalah 0.02 mm. Jumlah sel dalam beberapa kotak besar dihitung, kemudian dihitung jumlah sel rata-rata dalam satu kotak besar. Jumlah sel per ml contoh dapat dihitung sebagai berikut:

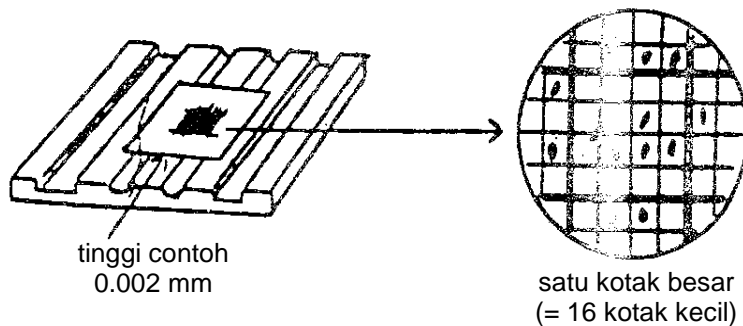
$$\text{Jumlah sel ml contoh} = \text{Jumlah sel per kotak besar} \times 25 \text{ kotak} \times \frac{1}{0.02} \times 10^3$$



$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel per ml contoh} &= \text{Jumlah sel per kotak besar} \times 25 \times 50 \times 10^3 \\ &= \text{Jumlah sel per kotak besar} \times 1.25 \times 10^6 \end{aligned}$$

Hitungan mikroskopik merupakan metode yang cepat dan murah, tetapi mempunyai beberapa kelemahan sebagai berikut:

1. Sel-sel yang telah mati tidak dapat dibedakan dari selsel hidup. Oleh karena itu, keduanya akan terhitung.
2. Sel-sel yang berukuran sangat kecil sukar dilihat di bawah mikroskop, sehingga kadang-kadang tidak terhitung.
3. Untuk mempertinggi ketelitian, jumlah sel di dalam suspensi harus cukup tinggi, misalnya untuk bakteri minimal 10^6 sel/ml. Hal ini disebabkan dalam setiap bidang pandang yang diamati harus terdapat sejumlah sel yang dapat dihitung.
4. Tidak dapat digunakan untuk menghitung sel jasad renik di dalam bahan pangan yang banyak mengandung debris atau ekstrak makanan, karena hal ini akan mengganggu dalam perhitungan sel.



Gambar 8.1. Gelas objek dengan kotak-kotak skala pada hitungan mikroskopik menggunakan metode Petroff-Hausser

8.3 HITUNGAN CAWAN

Prinsip dari metode hitungan cawan adalah jika sel jasad renik yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar, maka sel jasad renik tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop. Metode hitungan cawan merupakan cara yang paling sensitif untuk menentukan jumlah jasad renik karena beberapa hal yaitu:

1. Hanya sel yang masih hidup yang dihitung.
2. Beberapa jenis jasad renik dapat dihitung sekaligus.
3. Dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi jasad renik karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari suatu jasad renik yang mempunyai penampakan pertumbuhan spesifik.

Selain keuntungan-keuntungan tersebut, metode hitungan cawan juga mempunyai kelemahan-kelemahan sebagai berikut :

1. Hasil perhitungan tidak menunjukkan jumlah sel yang sebenarnya, karena beberapa sel yang berdekatan mungkin membentuk satu koloni.
2. Medium dan kondisi inkubasi yang berbeda mungkin menghasilkan nilai yang berbeda.

3. Jasad renik yang ditumbuhkan harus dapat tumbuh pada medium padat dan membentuk koloni yang kompak dan jelas, tidak menyebar.
4. Memerlukan persiapan dan waktu inkubasi relatif lama sehingga pertumbuhan koloni dapat dihitung.

Dalam metode hitungan cawan, bahan pangan yang diperkirakan mengandung lebih dari 300 sel jasad renik per ml atau per gram atau per cm (jika pengambilan contoh dilakukan pada permukaan), memerlukan perlakuan pengenceran sebelum ditumbuhkan pada medium agar di dalam cawan petri. Setelah inkubasi akan terbentuk koloni pada cawan tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung, dimana jumlah yang terbaik adalah di antara 30 sampai 300 koloni. Pengenceran biasanya dilakukan secara desimal yaitu 1:10, 1:100, 1:1000 dan seterusnya, atau 1:100, 1:10 000, 1:1000 000 dan seterusnya. Larutan yang digunakan untuk pengenceran dapat berupa larutan bufer fosfat, 0.85% NaCl, atau larutan Ringer.

Cara pemupukan dalam metode hitungan cawan dapat dibedakan atas dua cara yaitu metode tuang (*Pour plate*) dan metode permukaan (*Surface/Spread plate*). Dalam metode tuang, sejumlah contoh (1 ml atau 0.1 ml) dari pengenceran yang dikehendaki dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian ditambah agar cair steril yang telah didinginkan (47-50°C) sebanyak 15-20 ml dan digoyangkan supaya contoh menyebar rata. Pada pemupukan dengan metode permukaan, terlebih dahulu dibuat agar cawan kemudian sebanyak 0.1 ml contoh yang telah diencerkan dipipet pada permukaan agar tersebut, dan diratakan dengan batang gelas melengkung yang steril. Jumlah koloni dalam contoh dapat dihitung sebagai berikut :

$$\text{Koloni per ml atau per gr} = \text{jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

Untuk melaporkan hasil analisis mikrobiologi dengan cara hitungan cawan digunakan suatu standar yang disebut *Standard Plate Counts* (SPC) sebagai berikut :

1. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30 dan 300.
2. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan satu kumpulan koloni yang besar di mana jumlah koloninya diragukan dapat dihitung sebagai satu koloni.
3. Satu deretan rantai koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni.

Dalam SPC ditentukan cara pelaporan dan perhitungan koloni sebagai berikut :

1. Hasil yang dilaporkan hanya terdiri dari dua angka yaitu angka pertama (satuan) dan angka kedua (desimal). Jika angka yang ketiga sama dengan atau lebih besar dari 5, harus dibulatkan satu angka lebih tinggi pada angka kedua. Sebagai contoh, 1.7×10^3 unit koloni/ml atau 2.0×10^6 unit koloni/gr.
2. Jika pada semua pengenceran dihasilkan kurang dari 30 koloni pada cawan petri, berarti pengenceran yang dilakukan terlalu tinggi. Oleh karena itu, jumlah koloni pada pengenceran yang terendah yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai kurang dari 30 dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan di dalam tanda kurung.
3. Jika pada semua pengenceran dihasilkan lebih dari 300 koloni pada cawan petri, berarti pengenceran yang dilakukan terlalu rendah. Oleh karena itu, jumlah koloni pada pengenceran yang tertinggi yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai lebih dari 300 dikalikan dengan faktor pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan di dalam tanda kurung.
4. Jika pada cawan dari dua tingkat pengenceran dihasilkan koloni dengan jumlah antara 30 dan 300, dan perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah dari kedua pengenceran tersebut lebih kecil atau sama dengan dua, dilaporkan rata-rata dari kedua nilai tersebut dengan memperhitungkan faktor pengencerannya. Jika perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah lebih besar dari 2, yang dilaporkan hanya hasil yang terkecil.

5. Jika digunakan dua cawan petri (duplo) per pengenceran, data yang diambil harus dari kedua cawan tersebut, tidak boleh diambil salah satu. Oleh karena itu, harus dipilih tingkat pengenceran yang menghasilkan kedua cawan duplo dengan koloni di antara 30 dan 300.

8.4 METODE MPN (*MOST PROBABLE NUMBER*)

Berbeda dengan metode hitungan cawan di mana digunakan medium padat, dalam metode MPN digunakan medium cair di dalam tabung reaksi, di mana perhitungan dilakukan berdasarkan jumlah tabung yang positif yaitu yang ditumbuhi oleh jasad renik setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Pengamatan tabung yang positif dapat dilihat dengan mengamati timbulnya kekeruhan, atau terbentuknya gas di dalam tabung kecil (tabung Durham) yang diletakkan pada posisi terbalik, yaitu untuk jasad renik pembentuk gas. Untuk setiap pengenceran pada umumnya digunakan tiga atau lima seri tabung. Lebih banyak tabung yang digunakan menunjukkan ketelitian yang lebih tinggi, tetapi alat gelas yang digunakan juga lebih banyak.

Dalam metode MPN, pengenceran harus dilakukan lebih tinggi daripada pengenceran dalam hitungan cawan, sehingga beberapa tabung yang berisi medium cair yang diinokulasikan dengan larutan hasil pengenceran tersebut mengandung satu sel jasad renik, beberapa tabung mungkin mengandung lebih dari satu sel, sedangkan tabung lainnya tidak mengandung sel. Dengan demikian, setelah inkubasi diharapkan terjadi pertumbuhan pada beberapa tabung, yang dinyatakan sebagai tabung positif, sedangkan tabung lainnya negatif.

Metode MPN biasanya digunakan untuk menghitung jumlah jasad renik di dalam contoh yang berbentuk cair, meskipun dapat pula digunakan untuk contoh berbentuk padat dengan terlebih dahulu membuat suspensi 1:10 dari contoh tersebut. Grup jasad renik yang dapat dihitung dengan metode MPN juga bervariasi tergantung dari medium yang digunakan untuk pertumbuhan.

Dalam metode MPN, dari setiap pengenceran dimasukkan 1 ml masing-masing ke dalam tabung yang berisi medium, di mana untuk

setiap pengenceran digunakan tiga seri tabung atau lima seri tabung. Setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu, dihitung jumlah tabung yang positif yaitu tabung yang ditumbuhi jasad renik yang dapat ditandai dengan timbulnya kekeruhan. Misalnya pada pengenceran pertama ketiga tabung menghasilkan pertumbuhan positif, pada pengenceran kedua dua tabung positif, pada pengenceran ketiga satu tabung positif, dan pada pengenceran terakhir tidak ada tabung yang positif. Kombinasinya menjadi 3, 2, 1, 0, dan jika diambil tiga pengenceran yang pertama kombinasinya akan menjadi 3, 2, 1. Angka kombinasi ini kemudian dicocokkan dengan Tabel MPN (Lampiran 2 s.d 4), dan nilai MPN contoh dapat dihitung sebagai berikut :

$$\text{MPN contoh} = \text{Nilai MPN dari table} \times \frac{1}{\text{pengenceran tabung tengah}}$$

Tabel yang digunakan untuk menentukan nilai MPN dari tiga seri tabung berbeda dengan tabel untuk lima seri tabung. Kombinasi yang dipilih dimulai dari pengenceran tertinggi yang masih menghasilkan semua tabung positif, sedangkan pada pengenceran yang berikutnya ada tabung yang negatif. Kombinasi yang diambil terdiri dari tiga pengenceran. Jika pada pengenceran yang keempat atau seterusnya masih ditemukan tabung yang hasilnya positif, maka jumlah tabung yang positif tersebut harus ditambahkan pada angka kombinasi yang ketiga sampai mencapai jumlah maksimum.

Metode MPN dapat digunakan untuk menghitung jumlah jasad renik tertentu yang terdapat di antara campuran jasad renik lainnya. Sebagai contoh, jika digunakan Lactose Broth maka adanya bakteri yang dapat menfermentasi laktosa ditunjukkan dengan terbentuknya gas di dalam tabung Durham. Cara ini biasa digunakan untuk menentukan MPN koliform terhadap air atau minuman karena bakteri koliform termasuk bakteri yang dapat menfermentasi laktosa.

8.5 METODE HITUNGAN TIDAK LANGSUNG

Salah satu cara untuk menghitung jumlah sel di dalam suatu bahan secara tidak langsung adalah dengan uji biru metilen. Uji biru

metilen (BM) biasanya dilakukan terhadap susu, dan dapat memberikan perkiraan jumlah bakteri di dalam susu. Dalam uji ini ditambahkan sejumlah biru metilen ke dalam susu, kemudian diamati kemampuan bakteri di dalam susu untuk tumbuh dan menggunakan oksigen yang terlarut, sehingga menyebabkan penurunan kekuatan oksidasi-reduksi dari campuran tersebut. Akibatnya, biru metilen yang ditambahkan akan tereduksi menjadi putih metilen. Waktu reduksi, yaitu perubahan warna biru menjadi putih, dianggap selesai jika kira-kira empat per lima dari contoh susu yang terdapat di dalam tabung (sebanyak 10 ml) telah berwarna putih. Beberapa penelitian melaporkan perkiraan jumlah koloni yang diperoleh dengan metode hitungan cawan dengan waktu reduksi menggunakan metode biru metilen seperti terlihat pada **Tabel 10.1**. Semakin tinggi jumlah bakteri di dalam susu, semakin cepat terjadinya perubahan warna dari biru menjadi putih.

Tabel 8.1. Hubungan antara jumlah koloni menggunakan metode cawan dengan waktu reduksi dalam uji biru metilen

Waktu reduksi biru metilen (jam)	Perkiraan jumlah koloni ($\times 10^4$)
0.5 – 3.5	80 atau lebih
4	40
4.5	25
5	15
5.5	10
6	6
6.5 – 8	2.5
8	1

Metode biru metilen merupakan cara yang lebih cepat dibandingkan dengan metode hitungan cawan, dan lebih teliti karena bakteri yang terdapat dalam keadaan berkelompok di mana dalam metode hitungan cawan dihitung sebagai satu koloni, dalam metode BM hal ini tidak berpengaruh terhadap perhitungan jumlah bakteri.

Kelemahan metode BM adalah karena cara ini tidak praktis dilakukan terhadap susu yang mengandung bakteri hidup dalam jumlah sedikit, misalnya susu yang telah mengalami pasteurisasi, di mana

dibutuhkan waktu yang lama sekali untuk mereduksi biru metillen. Kelemahan lainnya adalah karena dalam uji biru metilen diperlukan waktu pengamatan yang terus-menerus, yaitu paling sedikit selama enam jam. Dengan metode ini juga tidak dapat dibedakan jenis bakteri yang terdapat di dalam susu, misalnya bakteri gram positif atau negatif, pembentuk spora, khamir, dan sebagainya.

8.6 TEHNIK PEMERIKSAAN JUMLAH BAKTERI DALAM BAHAN PANGAN

a. ANGKA LEMPENG TOTAL (TOTAL PLATE COUNT)

Angka lempeng total adalah jumlah bakteri mesofil dalam tiap 1 (satu) ml atau 1 (satu) gram sampel makanan yang diperiksa.

Angka lempeng total suatu produk pangan dapat mencerminkan teknik penanganan, tingkat dekomposisi, kesegaran dan kualitas sanitasi pangan. Di samping itu dapat untuk evaluasi kualitas sanitasi bahan pangan yang secara praktis tidak mendorong adanya pertumbuhan mikrobial. Khusus untuk bahan yang masih segar angka lempeng total dapat dipakai untuk evaluasi perkiraan umur simpan.

Penentuan angka lempeng total tidak ada hubungannya dengan indikator adanya mikrobial patogen sebab sebagian besar atau semua bakteri yang tumbuh mungkin bukan bakteri patogen. Angka lempeng total rendah tidak selalu mencerminkan bahwa produk pangan tidak tercemar mikrobial patogen dan sebaliknya angka lempeng total tinggi tidak selalu menggambarkan produk pangan tersebut tidak aman. Sebagai contoh produk pangan hasil fermentasi mempunyai angka lempeng total tinggi. Berdasarkan hal tersebut di atas, tidak semua jenis makanan mempunyai standar angka lempeng total yang sama.

Sesuai dengan batasan di atas maka angka lempeng total berlaku untuk semua bahan pangan padat maupun cair termasuk minuman dan air minum dengan dasar pengujian melihat koloni bakteri aerob mesofil setelah sampel makanan ditanam pada media yang sesuai dan dieramkan selama 24 – 48 jam pada suhu 35-37°C.

Cara Pemeriksaan :

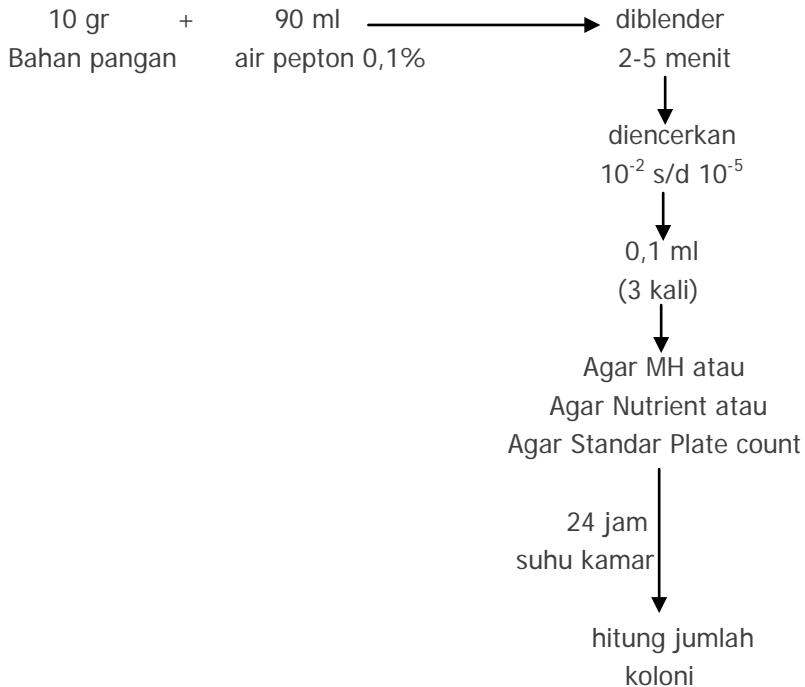
1. Bahan pangan padat

- a. Ditimbang secara steril 10 gr bahan pangan.
- b. Ditambah 90 ml air pepton 0,1%.
- c. Dimasukkan ke dalam Blender steril dan diblender sampai bahan padat tersebut hancur seluruhnya. Lama menghancurkan antara 2 – 4 menit atau tergantung dari keras dan kenyalnya bahan pangan.
- d. Dibuat pengenceran bertingkat 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4} ; 10^{-5} (kalau diperlukan dapat 10^{-6} dan seterusnya).
- e. Dari masing-masing pengenceran diambil 0,1 ml ditanam pada piring petri yang berisi agar Muller Hinton atau Agar Nutrient atau Agar Standar Plate count. Pada masing-masing pengenceran dikerjakan 3 kali penanaman.
- f. Dieramkan selama 24 – 48 jam pada suhu 35 – 37°C.
- g. Dihitung jumlah koloni kuman.
- h. Jumlah koloni kuman untuk masing-masing pengenceran adalah harga rata-rata dari jumlah koloni kuman hasil 3 kali penanaman.
- i. Penghitungan koloni kuman dianggap masih cukup akurat apabila jumlah koloni yang dihitung antara 30 – 300 koloni kuman pada setiap piring petri.
- j. Jumlah kuman dalam 1 gram bahan pangan = jumlah koloni (h) x 10 x faktor pengenceran x 10.

Contoh : Jumlah koloni kuman rata-rata dari 3 kali penanaman = 25 koloni, pada pengenceran 10^3 .

$$\begin{aligned}\text{Angka lempeng total} &= 25 \times 10 \times 10^3 \times 10 \\ &= 25 \times 10^5 \text{ CFU/gr}\end{aligned}$$

Bagan



Gambar 8.2. Skema pemeriksaan jumlah bakteri pada bahan pangan padat.

2. Bahan pangan cair

- Diambil dengan pipet steril 10 ml bahan pangan cair dimasukkan dalam tabung steril.
- Ditambah 90 ml air pepton 0,1%.
- Dibuat pengenceran bertingkat dengan cara sebagai berikut :
 - Diambil 1 ml larutan (b) ditambah 9 ml air pepton 0,1%.
 - Diambil 1 ml larutan (1) ditambah 9 ml air pepton 0,1%.
 - Diambil 1 ml larutan (2) ditambah 9 ml air pepton 0,1%, dan seterusnya sampai diperoleh pengenceran yang sesuai.
- Dilakukan pemanasan pada piring petri yang berisi Agar Muller' Hinton atau Agar Nutrient atau Agar Standar Plate count dengan

Metode Plate Count yaitu cara hitung koloni kuman yang tumbuh pada agar di dalam piring petri.

Pada masing-masing pengenceran dilakukan 3 kali penanaman.

Untuk mendapatkan pertumbuhan koloni kuman yang menyebar sehingga mudah dihitung pada metode plate count ada beberapa cara penanaman yaitu :

(1) **Cara pour plate** (penaburan)

Dari larutan yang telah diencerkan sesuai dengan kebutuhan diambil 1 ml dimasukkan ke dalam piring petri steril.

- (a) Telah disiapkan 20 ml Agar Muller Hinton atau Agar Nutrient atau Agar Standar Plate count di dalam tabung reaksi dan dipanaskan pada suhu sekitar 50°C di dalam penangas air atau dengan cara merebus tabung yang berisi agar tersebut sehingga agar dalam keadaan cair.
- (b) 20 ml agar cair (a) dituangkan ke dalam piring petri yang telah berisi 1 ml larutan yang telah diencerkan. Goyangkan pelan-pelan supaya terjadi campuran yang meluas rata.
- (c) Dieramkan selama 24 – 28 jam pada suhu 35 – 37°C.
- (d) Dihitung jumlah koloni kuman.
- (e) Jumlah koloni kuman untuk masing-masing pengenceran adalah harga rata-rata dari jumlah koloni kuman hasil 3 kali penanaman.
- (f) Penghitungan koloni kuman dianggap masih cukup akurat apabila jumlah koloni yang dihitung antara 30 – 300 koloni kuman pada setiap piring petri.
- (g) Jumlah kuman dalam 1 ml bahan pangan cair = jumlah koloni (e) x faktor pengenceran.

Contoh : Jumlah koloni kuman rata-rata dari 3 kali pengenceran = 30 koloni, pada pengenceran 10^4 .

$$\text{Angka lempeng total} = 30 \times 10^4$$

Catatan :

Untuk mendapatkan hasil yang baik pada cara pour plate harus diperhatikan :

- (a) Selama mengerjakan piring petri dibuka seminimal mungkin untuk mencegah

kontaminasi.

- (b) Waktu yang diperlukan untuk menuangkan media sampai dengan mencampur tidak boleh lebih dari 20 menit supaya media tidak membeku.
- (c) Setelah media dituangkan di dalam piring petri yang berisi 1 ml bahan pangan cair yang telah diencerkan dikerjakan pencampuran dengan cara menggoyang pelan-pelan piring petri keempat arah paling sedikit 5 kali.
- (d) Diusahakan tutup piring petri tidak basah oleh media.
- (e) Setelah media menjadi padat tanaman dipindah ke dalam alat pengeras dengan suhu 35 – 37°C.

(2) **Cara Spread Plate** (Perataan)

Dari larutan yang telah diencerkan sesuai dengan kebutuhan diambil 0,1 ml ditetaskan pada permukaan media Agar Muller Hinton atau Agar Nutrient atau Agar Standar Plate count.

- (a) Tetesan diratakan ke seluruh permukaan agar dengan menggunakan batang gelas bengkok steril.
- (b) Dieramkan selama 24 – 28 jam pada suhu 35 – 37°C.
- (c) Dihitung jumlah koloni kuman.
- (d) Jumlah koloni kuman untuk masing-masing pengenceran adalah harga rata-rata dari jumlah koloni kuman hasil 3 kali penanaman.
- (e) Penghitungan koloni kuman dianggap masih cukup akurat apabila jumlah koloni yang dihitung antara 30 – 300 koloni kuman pada setiap piring petri.
- (f) Jumlah kuman dalam 1 ml bahan pangan cair = jumlah koloni (d) x 10 x faktor pengenceran.

Contoh : Jumlah koloni kuman rata-rata dari 3 kali penanaman = 35 koloni, pada pengenceran 10^3 .

$$\text{Angka lempeng total} = 35 \times 10 \times 10^3 = 35 \times 10^4$$

Catatan :

Untuk mendapatkan hasil yang baik pada cara spread plate permukaan media Agar yang dipakai harus dalam keadaan kering.

(3) **Cara Drops** (tetesan)

Dari larutan yang telah diencerkan sesuai dengan kebutuhan diambil 20 µl dengan mikro pipet dan ditetaskan pada permukaan media Agar Muller Hinton atau Agar Nutrient atau Agar Standar Plate count.

- (a) Dieramkan selama 24 – 28 jam pada suhu 35 – 37°C.
- (b) Dihitung jumlah koloni kuman.
- (c) Jumlah koloni kuman untuk masing-masing pengenceran adalah harga rata-rata dari jumlah koloni kuman hasil 3 kali penanaman.
- (d) Penghitungan koloni kuman dianggap akurat pada seri pengenceran yang pertumbuhan koloninya tidak padat dan mudah dilakukan penghitungan.
- (e) Jumlah kuman dalam 1 ml bahan pangan cair =

$$\text{Jumlah koloni (c)} \times \frac{1000}{20} \times \text{faktor pengenceran.}$$

Contoh : Jumlah koloni kuman rata-rata dari 3 kali penanaman = 30 koloni, pada pengenceran 10^4 .

$$\text{Angka lempeng total} = 30 \times 50 \times 10^4 \text{ CFU/ml}$$

b. Metoda MPN (*Most Probable Number*)

Metoda MPN adalah salah satu cara untuk menghitung jumlah **E. coli** atau **Coliform** di dalam air secara empiris. MPN diartikan sebagai jumlah perkiraan terdekat.

Untuk menghitung jumlah **Coliform** atau **E. coli** yang mempunyai sifat hampir sama yaitu berbentuk batang, bersifat Gram negatif, dapat meragikan laktosa dengan menghasilkan asam dan gas, perlu diketahui hal-hal yang berbeda, yaitu :

1. **Coliform** yang terdiri dari beberapa macam bakteri sebagian besar termasuk dalam golongan kuman yang meragikan laktosa secara lambat, yaitu 2 kali 24 jam atau lebih. **E. coli** termasuk dalam golongan kuman yang meragikan laktosa cepat, yaitu 1 kali 24 jam.
2. **Coliform** dapat meragi laktosa pada suhu 37°C. **E. coli** dapat meragi laktosa sampai suhu 44,4°C.
3. **E. coli** pada uji IMVC (Indol, Metol merah, Voges-Proskauer, Citrat) menunjukkan hasil positif pada Indol dan Metol merah.

Cara pengambilan contoh air

1. Disiapkan wadah steril dengan volume lebih dari 100 ml yang tertutup misalnya : botol dengan tutup, atau tabung dari gelas yang dapat ditutup secara steril.

Catatan :

Apabila air yang akan diperiksa adalah air yang telah di Klorinasi, botol yang digunakan diberi larutan 0,1 ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 3% untuk tiap 100 ml contoh air sebelum disterilkan.

2. Tutup botol dibuka pada saat akan diisi contoh air yang akan diperiksa.
3. Setelah diisi air botol segera ditutup kembali seperti semula. Jumlah air yang diambil tidak kurang dari 100 ml dan di dalam botol masih tersisa ruang berisi udara.
4. Cara pengambilan contoh air sesuai dengan asal air.
 - a. Air dari kran :
 - (1) Bersihkan bagian dalam dan luar dari kran dengan alkohol.
 - (2) Kran dibuka dan biarkan air mengalir selama 2 – 3 menit.
 - (3) Tampung air di dalam botol steril sebanyak ± 100 ml.
 - b. Air dari pompa tangan :
 - (1) Bersihkan permukaan saluran air pada pompa dengan alkohol atau menggunakan kapas yang dijepit dengan pincet, dicelup alkohol atau spiritus dan dibakar.
 - (2) Pompa digerakkan selama 5 menit dan biarkan air mengalir.
 - (3) Tampung air di dalam botol steril sebanyak ± 100 ml.
 - c. Air dari sumur atau bak persediaan air :
 - (1) Botol steril diikat pada ujung tongkat yang telah disiapkan lebih dulu.
 - (2) Tutup botol dibuka dan secara cepat botol dimasukkan ke dalam air dengan mulut botol menghadap ke bawah sampai sedalam ± 30 cm dan kemudian mulut secara perlahan-lahan diputar menghadap ke atas.
 - (3) Bila volume air di dalam botol dipandang sudah cukup, botol segera diangkat dan ditutup kembali secara steril.

Catatan :

- (a) Apabila sumur cukup dalam contoh air diambil dari air yang ditimba dengan membersihkan timba dengan alkohol atau dengan cara dibakar seperti pada 4.b.1.
 - (b) Apabila yang diperiksa air sungai atau air dari mata air yang mengalir pada waktu memutar mulut botol menghadap ke atas bersamaan dengan menggerakkan botol menentang arus.
5. Contoh air yang akan diperiksa dimasukkan di dalam kotak es (*portable ice box*) dan segera dibawa ke laboratorium. Apabila lama pengiriman, mulai dari pengambilan sampai dengan dilakukan pemeriksaan di Laboratorium kurang dari 4 jam tidak perlu suhu dingin seperti di dalam almari es, tetapi cukup dijaga dalam keadaan dingin selama dalam perjalanan.

Cara pemeriksaan :

1. Disiapkan 10 ml dan 5 ml media Lactose Broth (LB) dalam tabung reaksi besar (ukuran 30 – 50 ml) yang di dalamnya dimasukkan tabung reaksi kecil secara terbalik untuk mengetahui adanya gas.
2. Diletakkan 4 kelompok tabung di dalam satu deret rak tabung :
 - (a) kelompok pertama : 3 tabung berisi 10 ml LB
 - (b) kelompok kedua : 3 tabung berisi 5 ml LB
 - (c) kelompok ketiga : 3 tabung berisi 5 ml LB
 - (d) kelompok keempat : 3 tabung steril
3. Untuk masing-masing kelompok tabung dimasukkan contoh air yang diperiksa :
 - (a) 3 tabung kelompok pertama masing-masing ditambah 10 ml air
 - (b) 3 tabung kelompok kedua masing-masing ditambah 1 ml air
 - (c) 3 tabung kelompok ketiga masing-masing ditambah 0,1 ml air
 - (d) 3 tabung kelompok keempat masing-masing diisi 20 ml air dan dimasukkan tabung reaksi kecil secara terbalik. Kelompok keempat fungsinya sebagai kontrol.
4. Diincubasikan 37°C selama 24 jam.
5. Dilihat apakah terbentuk gas atau tidak dengan melihat adanya gelembung gas pada tabung reaksi kecil yang diletakkan secara terbalik.

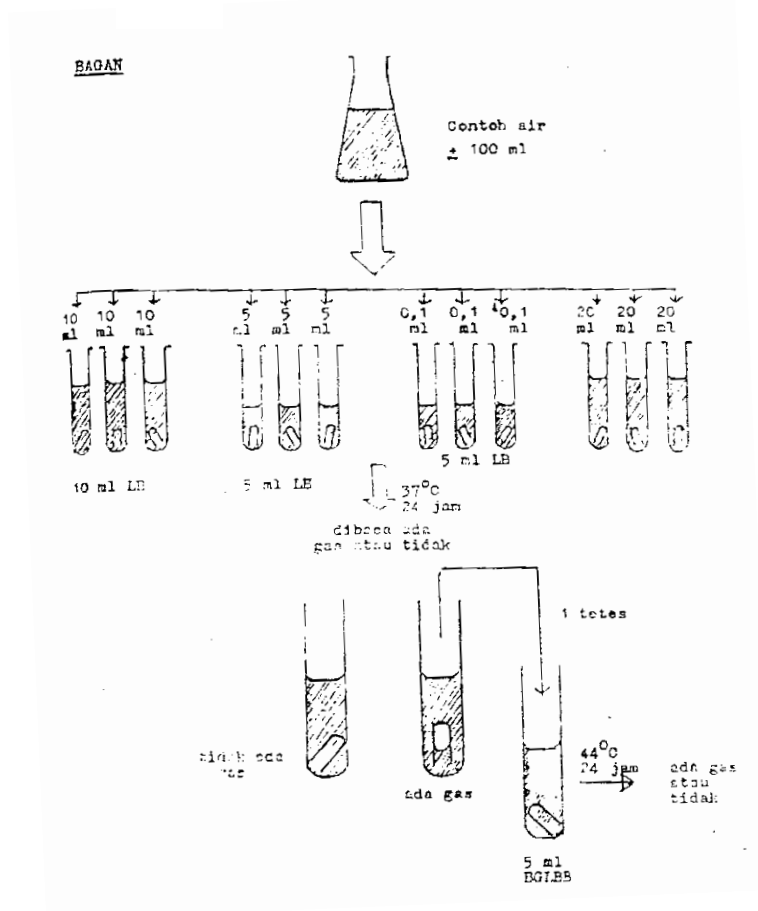
6. Dari tiap tabung yang ada gasnya diambil satu tetes dimasukkan dalam 5 ml media Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLBB) yang di dalamnya terdapat tabung reaksi kecil yang terbalik.
7. Dieramkan 44°C selama 24 jam.
8. Dilihat apakah terbentuk gas atau tidak. Adanya gas dicatat dari setiap kelompok 3 tabung.
9. Hasil gas positif maupun negatif dari masing-masing kelompok 3 tabung dicocokkan dengan Index Tabel MPN. Maka didapat jumlah **E. coli** pada tiap 100 ml air.

Catatan :

Untuk menghitung jumlah **Coliform** di dalam air pada dasarnya sama dengan cara menghitung **E. coli**. Yang perlu diperhatikan adalah :

1. Lama penggeraman pada penanaman di media LB adalah 48 jam pada suhu 37°C, untuk memberi kesempatan **Coliform** yang termasuk pemecah laktosa lambat.
2. Setelah pada penanaman di media LB menunjukkan adanya gas, masih perlu ditanam pada BGLBB untuk mengurangi jumlah fase positif karena pertumbuhan kuman lain yang dapat menghasilkan gas (Sacharolytic – clostridia). BGLBB bersifat lebih selektif. Lama penggeraman di BGLBB 48 jam pada suhu 37°C.

Bagan



Gambar 8.3. Skema cara pemeriksaan jumlah Coliform dengan metode MPN

MPN INDEX AND 95% confidence limits for various combination of positive and negative result when three 10 ml portions, three 1 ml portions and three 0,1 ml portions are used.

Nuber of giving po-
sitive reaction out of

MPN INDEX

3 of 10 ml Each	3 of 1 ml Each	3 of 0,1 ml Each	Per 100 ml
0	0	0	0 – 3
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	2400

Dikutip dari : Taras, M.J., 1971. Standart Method for The Examination of Water and Waste. Ed 13.

Contoh :

Pada pembacaan akhir setelah ditanam pada media BGLBB dieramkan pada suhu 44°C selama 24 jam didapat pembentukan gas pada :

- (a) 2 tabung di kelompok pertama
- (b) 1 tabung di kelompok kedua
- (c) 1 tabung di kelompok ketiga

Maka setelah dicocokkan dengan MPN INDEX jumlah E. coli 20 kuman per 100 ml air.

BAB 9

SIFAT DAN KLASIFIKASI MIKROBA

9.1 PENDAHULUAN

Mikrobia pangan dapat dibedakan atas **mikrobia yang bersifat menguntungkan**, dimana dapat membantu proses pengolahan (misalnya : yang dipergunakan untuk proses fermentasi pangan) dan **mikrobia yang bersifat merugikan**, yaitu yang dapat merusak bahan pangan atau yang dapat menimbulkan penyakit (bersifat patogen). Mikrobia yang bersifat menguntungkan perlu diketahui sifat-sifat spesifiknya sehingga dapat dikembangkan menjadi mikrobia yang bersifat lebih potensial untuk produksi pangan. Demikian juga untuk jenis mikrobia yang bersifat perusak atau patogen, perlu diketahui sifat-sifatnya sehingga dapat dicegah atau dihambat pertumbuhannya atau dapat dibunuh sel dan spora.

Secara umum mikrobia pangan juga dapat dibedakan berdasarkan jenisnya yaitu tergolong dalam **Eukariotik** termasuk jamur dan khamir, dan yang tergolong dalam **Prokariotik**, yaitu bakteri. Selain penggolongan umum berdasarkan jenisnya, juga dapat digolongkan berdasarkan sifat dan kondisi pertumbuhannya meliputi suhu, pH, kandungan air bahan (a_w), oksigen, kadar gula, kadar garam dan kandungan nutrisi bahan.

9.2 JAMUR (KAPANG)

Jamur yang tumbuh pada bahan pangan secara visual dapat terlihat seperti kapas atau benang berwarna ataupun tidak berwarna yang disebabkan oleh terbentuknya miselia dan spora jamur. Klasifikasi jamur berdasarkan atas sifat-sifat morfologis, kultural dan fisiologis.

Sifat-sifat morfologis ditentukan oleh bentuk dan struktur, berdasarkan kenampakan secara makroskopis dan mikroskopis. Sifat-sifat tersebut dapat dipergunakan untuk identifikasi dan klasifikasi jamur.

Sifat-sifat morfologis jamur meliputi :

1. Pembentukan hifa dan miselia

Hifa adalah benang-benang yang dibentuk oleh jamur, sedang yang dibentuk hifa adalah miselia. Secara mikroskopis hifa jamur dapat dibedakan atas dua golongan yaitu yang bersepta dan yang tidak bersepta.

2. Struktur dan bagian yang memproduksi

Jamur dapat tumbuh dari sebuah miselia, tetapi reproduksinya terutama oleh adanya spora yang bersifat aseksual, tetapi juga ada yang bersifat seksual. Spora yang bersifat aseksual dihasilkan jamur dalam jumlah banyak, kecil-kecil dan tahan terhadap suasana kering. Spora aseksual dapat dibedakan atas empat jenis yaitu **konidia**, **arthrospora** atau **oidia**, **sporangiospora** dan **khlamidospora**. Sifat-sifat spora aseksual dapat dipergunakan untuk membantu identifikasi jamur. Spora aseksual dapat dibedakan berdasarkan atas tempat pembentukan dan jenis produksinya.

Jamur yang mempunyai hifa tak bersepta (Phycomycetes) dapat menghasilkan oospora yang dibentuk oleh bersatunya gamet jantan dan betina. Pada Zygomycetes, pembentukan zigospora oleh pertemuan ujung-ujung hifa dari miselia yang sama atau dapat juga berbeda. Sedang pada Ascomycetes (bersepta) spora seksual disebut ascospora dibentuk oleh miselia yang sama atau dari dua miselia yang terpisah. Pada Basidiomycetes spora seksualnya disebut basidiospora.

Sifat kultural jamur ditentukan oleh kenampakan pertumbuhan jamur pada makanan. beberapa jamur tumbuh terpisah-pisah dan ada yang kompak, pada permukaan bahan kelihatan kering atau membentuk masa seperti serbuk (powder), kadang-kadang halus dan lunak atau kelihatan basah dan berair. Warna miselia jamur dapat merah, kuning, coklat, abu-abu, hitam, sedang warna sporanya adalah hijau, biru, biru kehijauan, kuning, oranye, merah muda, coklat, abu-abu atau hitam.

Sifat-sifat fisiologis jamur ditentukan oleh :

1. Kebutuhan sel akan air

Secara umum, jamur membutuhkan air lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri. Kebutuhan sel terhadap air ditentukan oleh nilai aktivitas air (a_w) bahan, yaitu merupakan perbandingan antara tekanan uap air dalam larutan dengan tekanan uap air murni. Nilai a_w yang diperlukan oleh mikrobia untuk pertumbuhan ditentukan oleh macam zat pelarut terutama kemampuannya untuk mengurangi a_w , nilai gizi media pertumbuhan, suhu, kebutuhan oksigen, pH dan ada tidaknya zat penghambat.

2. Suhu yang diperlukan untuk pertumbuhan

Suhu optimum pertumbuhan jamur dapat dibedakan atas tiga golongan yaitu yang mempunyai suhu optimal rendah (psikrofil), suhu sedang (mesofil) dan suhu tinggi (termofil).

3. Kebutuhan terhadap oksigen dan pH

Jamur bersifat aerobik yaitu selalu membutuhkan oksigen untuk pertumbuhan, dan mempunyai interval pH sekitar 2,0 – 8,5.

4. Kebutuhan terhadap nutrisi

Secara umum jamur dapat mempergunakan jenis makanan mulai yang sederhana sampai dalam bentuk kompleks. Sebagian besar jamur bersifat hidrofilik, dapat menghasilkan enzim emilase, pektinase, proteinase dan lipase.

5. Zat penghambat

Zat penghambat terhadap pertumbuhan jamur yang terdapat dalam bahan pangan maupun yang dikeluarkan oleh jenis jamur tertentu, misalnya *Penicillium chrysogenum* menghasilkan penisilin, *Aspergillus lavatus* menghasilkan clavasin. Zat penghambat untuk jamur misalnya asam sorbat, asam propionat, asam asetat atau zat yang bersifat fungisida.

Klasifikasi dan Identifikasi Jamur

Jamur tergolong dalam Eumycetes atau fungi sejati terdiri atas empat kelas yaitu Phycomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes dan Deuteromycetes (Fungi imperfecti). Identifikasi jamur dapat dilakukan berdasarkan sifat-sifat morfologisnya. Berdasarkan pengamatan secara mikroskopis, jamur dapat ditentukan sampai spesiesnya.

Untuk pengamatan jenis jamur perlu diperhatikan sifat-sifat sebagai berikut :

1. Hifa bersepta atau tidak
2. Miselia jernih atau gelap / keruh
3. Miselia berwarna atau tidak
4. Bila terdapat spora seksual berbentuk oospora, zygospora atau ascospora

Jenis jamur yang terdapat pada bahan pangan :

1. Jamur yang terdapat dalam bahan pangan dan tergolong dalam **klas Phycomycetes bersifat tidak bersepta**.

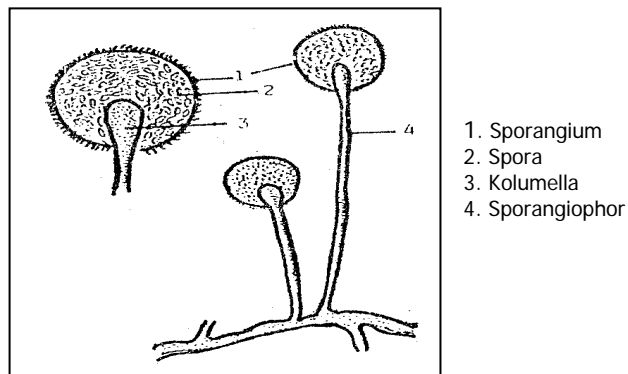
- a. **Subklasis Oomycetes**, mempunyai spora seksual : oospora.

Termasuk ordo : saprolognialis yang terkenal adalah Saprolegnia parvica tumbuh pada ikan, disebut juga sebagai jamur air berkembang biak dengan sporangia dan zoospora yang bersifat motil. Ordo peronosporalis yang terkenal adalah genus phytum penyebab kerusakan pada beberapa jenis sayuran dan bersifat patogen pada akar tanaman.

- b. **Suklasis Zygomycetes**, spora seksualnya : zygospora
Ordo : Mucorales, yang terkenal adalah genus Mucor.

M. racemosus bersifat perusak pada beberapa jenis makanan. *M. rouxii* dipergunakan sebagai "amylo" proses untuk sakarifikasi pati pada fermentasi makanan.

Sifat-sifat morfologi Mucor : hifa tidak bersepta, sporangiospor dibentuk pada semua bagian, kolumela berbentuk bulat, silindris atau oval, spora halus, zygospora dan suspensor hampir sama, tidak mempunyai stolon, rhizzoid, atau sporangiola (sporangia kecil) (Gambar 11.1)



Gambar 9.1. *Mucor* sp

Genus Zygorrhynchus : serupa dengan *Mucor* tetapi mempunyai zygospora yang tidak samadengan suspensornya dan dibentuk oleh cabang hifa yang sama.

Genus Rhizopus : yang terkenal sebagai perusak makanan adalah *R. nigricans*, dikenal sebagai "bread mold" terdapat pada roti, jenis sayuran dan buah.

R. oligosporus dikenal sebagai jamur tempe mempunyai sifat yang menguntungkan karena selain bersifat proteolitik dan lipolitik juga mampu menghasilkan zat antibiotik terhadap bakteri-bakteri gram negatif yang bersifat patogen.

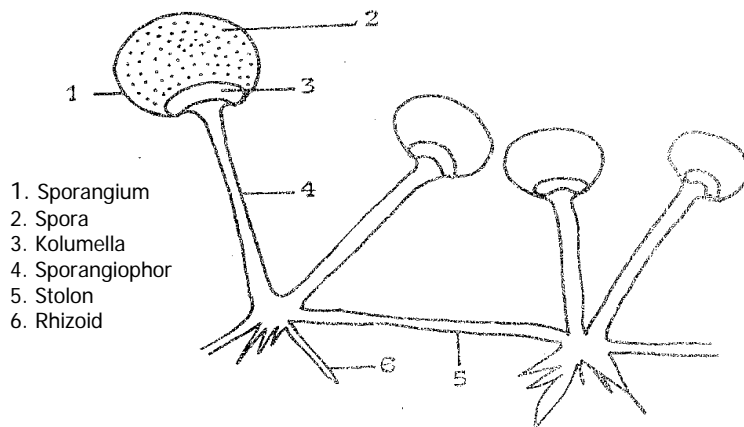
R. oryzae bersifat amilolitik juga terdapat pada fermentasi tempe dan kecap.

R. arrhizus bersifat pektolitik dan selulolitik, membantu proses fermentasi oncom hitam dan putih kadang-kadang juga terdapat pada tempe.

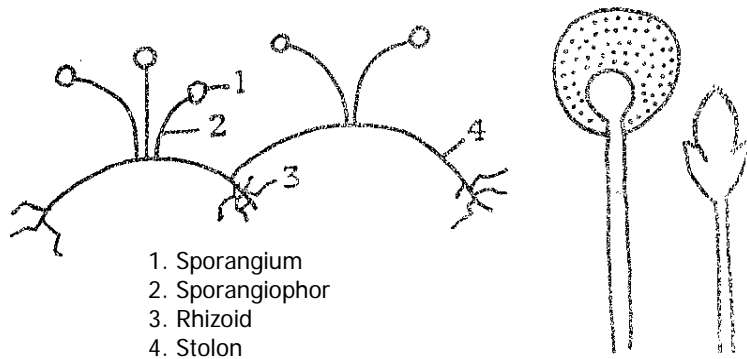
Sifat-sifat morfologi Rhizopus : tidak bersepta, mempunyai stolon dan rhyzoid, sporangiospor menonjol pada node tempat rhyzoid terbentuk, sporangia biasanya besar dan berwarna hitam, kolumela hemispherical, apophysis terbentuk cawan, membentuk miselia yang sangat lebat (Gambar 11.2.). Genus *Absidia*, hampir serupa dengan *Rhizopus*, tetapi sporangiospor menonjol pada bagian intrernode dan sporangia kecil yang terbentuk agak oval (Gambar 11.3.).

Genus *Thamnidium*, yang terkenal adalah *T. elegans* terdapat pada daging yang disimpan.

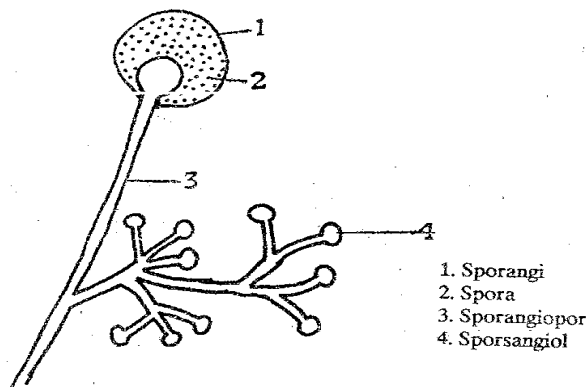
Sifat-sifat morfologi : tidak bersepta, sporangiospor mempunyai sporangia besar pada bagian ujung dan lateral cluster dari sporangola. Pada sporangila terdapat dua sampai duabelas atau lebih spora, bercabang-cabang dekat dengan dasar sporangiospor (Gambar 11.4).



Gambar 9.2. : *Rhizopus* sp



Gambar 9.3 : Absidia sp



Gambar 9.4. : Thamnidium sp

2. Golongan jamur bersepta

Klasis : Fungi imperfecti (Deuteromycetes), tidak mempunyai spora seksual.

Ordo Moniliales : konidiopor bebas keluar dari miselia.

a. Familia : **Moniliaceae**, mempunyai sifat miselia jernih atau tak berwarna atau berwarna cerah.

Genus aspergillus, banyak yang tumbuh pada serealia dan kacang-kacangan selama penyimpanan dan beberapa species dapat

menghasilkan zat yang bersifat racun, bersifat kontaminan dan merusak pada beberapa jenis makanan selama penyimpanan, tetapi juga ada species yang dapat dimanfaatkan untuk industri makanan.

Sifat-sifat morfologi aspergillus : bersepta, miselia bercabang biasanya tidak berwarna, konidiophor bersepta atau tidak bersepta yang muncul dari kaki sel, sterigmata sederhana atau kompleks, berwarna atau tidak berwarna, konia berbentuk rantai berwarna hijau, coklat atau hitam, tumbuh baik pada suhu $37\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$ atau di atasnya.

A. glaucus dan *repens* jamur kontaminan pada makanan yang mempunyai kandungan gula dan garam tinggi dan mampu tumbuh pada kadar air yang rendah.

A. niger, merusak buah seperti jeruk, apel dan sayuran seperti sepelebawang merah dan putih, tetapi dapat dipergunakan untuk industri asam glukonat.

A. clavatus menghasilkan zat antibiotika clavasin.

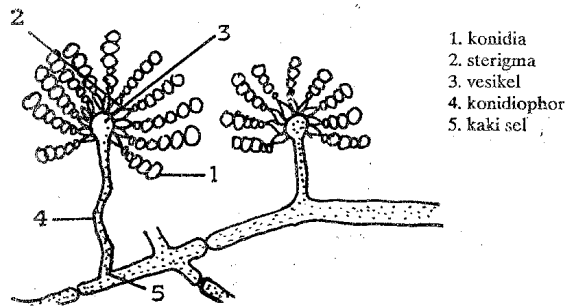
A. oryzae dan *A. sojae* dipergunakan untuk pembuatan kecap dan shoyu, bersifat proteolitik dan amilolitik.

A. flavus, *A. parasiticus* dikenal sebagai penghasil aflatoksin.

A. ochraceus dapat menghasilkan ochratoksin dan *A. versicolor* (*A. nidulans*) penghasil toksin sterigmatocystin, ketiga jenis toksin tersebut bisa bersifat karsinogenik.

Jenis Aspergillus lain yang juga bersifat toksis adalah :

A. fumigatus, *A. chevalieri*, *A. wentii*, *A. ostiumus*, *A. ruber*, *A. niveus*, *A. terreus* dan *A. flavipes*.



Gambar 9.5. *Aspergillus* sp

Genus *Penicillium*, dibedakan atas empat kelompok berdasarkan pada bentuk badan buah (spore head), yaitu penicili sederhana (monoverticilata), dua penisili (biverticilata) dan penilli yang kompleks terdiri atas polivertivilata simetris dan polivertisilata asimetris.

Jenis yang banyak terdapat dalam bahan pangan adalah penicilli kompleks yang asimetris. Sebagian besar genus penicillium bersifat perusak pada beberapa jenis sayuran, buah, sereal dan kacang-kacangan dan bersifat toksis.

Sifat-sifat morfologis penicillium : bersepta, miselia bercabang biasanya tidak berwarna, konidiophor bersepta keluar dari permukaan hifa yang bercabang atau tidak bercabang badan buah berbentuk seperti sapu yang diikuti dengan sterigmata dan konidia yang tersusun seperti rantai pada permukaan sterigmata, konidia pada hampir semua spesies kalau masih muda berwarna hijau dan kemudian berubah menjadi kecoklatan.

P. expansum : spora berwarna hijau kebiruan, penyebab pembusukan pada buah.

P. digitatum : spora berwarna hijau kekuningan, penyebab pembusukan pada buah jeruk.

P. italicum : konidia berwarna hijau kebiruan, merupakan kontaminan dan perusak pada buah jeruk.

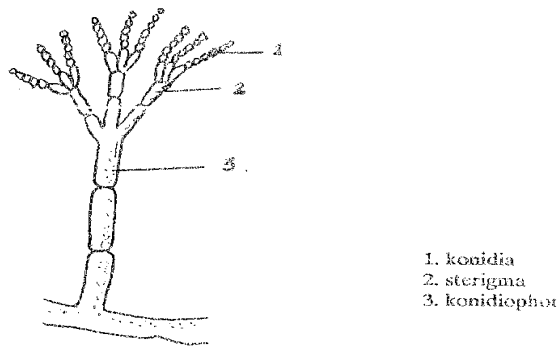
P. roqueforti dan *p. cammemberti* dipergunakan untuk pemeraman keju sehingga dihasilkan flavor spesifik.

P. islandicum dan *p. funiculosum* bersifat toksia karena menghasilkan luteoskyrin dan cyclochlorotin

P. citrium menghasilkan toksin citrinin.

P. citreo-viride penyebab toksin citreoviridin.

Spesies lain yang bersifat toksin adalah : *P. purberulum*, *P. patulum*, *P. griseofulvum*, *P. rubrum*, *P. purpurogenus*, *P. rugulosum*, *P. notatum*, *P. viridicantum*, *P. cabescens* dan masih beberapa spesies lain yang juga dapat menyebabkan toksis baik pada manusia maupun hewan.



Gambar 9.6. Penicillium sp

9.3 KHAMIR

Khamir adalah fungi uniseluler yang bersifat mikroskopik, pada beberapa genus ada yang membentuk miselia dengan percabangan, dan ada yang berkembang biak secara "budding". Khamir dapat bersifat merusak atau membantu proses pengolahan pangan. Khamir banyak dipergunakan untuk pembuatan roti, bir, anggur (wine), vinegar (asam cuka), dan cuka untuk makanan ternak atau sebagai protein sel tunggal. Sedang jenis khamir yang bersifat perusak terdapat pada sauerkraut, sari buah, sirup, tetss, masu, jelli, daging, wine, bir dan beberapa makanan lain.

Sifat-sifat morfologi khamir dapat diketahui secara mikroskopis meliputi bentuk dan ukuran sel, sifat reproduksi, sifat kultural serta struktur sel.

Beberapa bentuk khamir, diantaranya ialah berbentuk bulat atau *spheroid*, elips atau bulat telur, batang atau silindris, seperti buah jeruk (lemon). Bentuk sel khamir tetap sehingga dapat membantuk untuk identifikasi. Ukuran sel khamir berkisar antara 1 – 9 mikron kali 2 – 20 mikron, tergantung pada spesiesnya. Khamir tidak mempunyai flagela sehingga tidak dapat melakukan gerakan aktif.

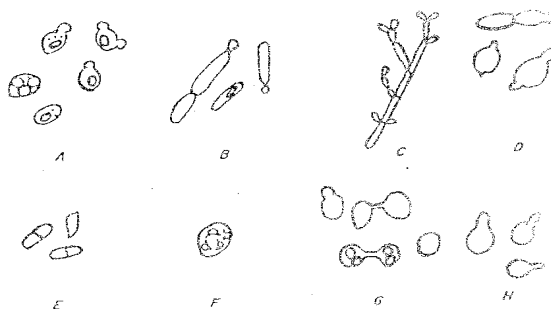
Khamir dapat berkembang biak secara bertunas (budding), pembelahan, pembentukan spora aseksual, konjugasi atau reproduksi seksual dan secara partenogenesis. Tetapi yang sering terjadi adalah secara bertunas (budding). Pembentukan tunas terjadi setelah sel mencapai ukuran tertentu. Fase pembentukan tunas adalah centrosom membentuk tonjolan yang mendesak sitoplasma sehingga terjadi tonjolan pada sel. Tonjolan tersebut kemudian tumbuh menjadi besar yang diikuti dengan masuknya bagian-bagian inti ke dalam tonjolan. Setelah tonjolan tersebut menjadi sel anakan dan cukup dewasa maka segera melepaskan diri.

Kenampakan pertumbuhan sel khamir pada semua bagian media penting untuk identifikasi, misalnya terbentuknya lapisan tipis (film) menunjukkan adanya khamir jenis oksidatif atau "film yeast", sedang khamir yang berwarna adalah genus *Rhodoterrubra* warnanya oleh karotenoid. Hampir semua khamir pada waktu selnya masih muda kelihatan berair atau membentuk lendir, berwarna putih, agak krem atau merah muda, setelah tua selnya maka kelihatan kering dan keriput.

Khamir dapat bersifat oksidatif dan fermentatif. Pada khamir oksidatif tumbuh di permukaan cairan dan membentuk lapisan tipis, sehingga disebut sebagai "film yeast". Seding khamir yang bersifat fermentatif biasanya tumbuh di dalam cairan.

Sifat-sifat fisiologis khamir : secara umum kebutuhan akan air lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri pada umumnya, beberapa jenis khamir membutuhkan air lebih banyak dibandingkan dengan jamur. Jenis khamir tertentu mempunyai persyaratan a_w yang rendah yaitu yang tergolong dalam osmofilik. Interval a_w untuk pertumbuhan secara normal

adalah : 0.88 – 0.94, sedang untuk khamir osmofilik antara 0.62 – 0.65. Suhu pertumbuhan khamir yang optimal antara 25 – 30½ °C, maksimum suhu pertumbuhan : 35 – 47½ °C. pH optimum antara 4.0 – 4.5, dan tidak dapat tumbuh baik pada media yang bersifat alkalis. Khamir tumbuh baik pada suasana aerob, tetapi untuk jenis fermentatif dapat tumbuh secara anaerob, walaupun secara lambat. Secara umum gula merupakan sumber enersi yang paling baik, hanya untuk jensi khamir oksidatif dapat menggunakan asam organik dan alkohol. Penggunaan sumber N untuk pertumbuhan dengan pertambahan amonia, urea atau polipeptida.



Gambar 9.7. Bentuk-bentuk sel khamir : A. *Sacharomycetes cerevisiae*. B. *Candida* dengan sel yang memanjang, C. *Candida* menunjukkan pseudomycelia, D. Khamir berbentuk jeruk (lemon-shaped yeast), E. *Schizosaccheromyces*, F. *Hansenulla*, G. *Zygossaccharomyces*, H. Khamir bentuk cawan

Pengelompokan khamir berdasarkan sifat-sifat pertumbuhannya pada bahan pangan, meliputi :

1. **"Film yeast"** : *Pichia*, *Hansenulla*, *Debaryomyces*, *Candida* dan *Trichosperon*, biasanya tumbuh pada permukaan makanan asam, seperti sauerkraut dan pickles, bersifat mengoksidasi asam organik, dan bersifat toleran terhadap asam. *Hansenulla* dan *Pichia* toleran terhadap kadar alkohol yang tinggi dan dapat mengoksidasi alkohol dalam minuman beralkohol. *Pichia* banyak didapat merusak wine dan dapat menghasilkan flavor tertentu. *Debaryomyces* bersifat sangat toleran terhadap kadar garam tinggi dan dapat tumbuh pada

konsentrasi garam sampai 24%. Jenis film yeast tidak menghasilkan atau sedikit sekali alkohol dan asam volatil.

2. **“Apiculate” atau “lemon shape yeast”** : *Sacchomycodes*, *Hanseniospora*, *Nadsodia* dan *Kloeckera* merupakan golongan yang bersifat perusak fermentasi wine dan menyebabkan off-flavor, menghasilkan alkohol rendah, dan asam volatil tinggi.
3. **“Osmofilic yeast”** yaitu jenis yang tahan terhadap kadar gula dan garam tinggi. Persyaratan pertumbuhan untuk a_w sebesar 0.62 – 0.65 dan ada yang sekitar 0.78. Yang tergolong dalam golongan ini adalah : *Saccharomyces rouxii* dan *S. mellis* penyebab kerusakan pada buah yang dikeringkan, konsentrat sari buah, madu dan bahan lain yang berkadar gula tinggi. “Salt tolerant yeasy” dapat tumbuh pada daging yang diasinkan, ikan asin, misa, kecap, shoyu. Hampir semua yang bersifat “salt tolerant” biasanya bersifat “film yeast”. Yang termasuk golongan ini adalah : *Torulopsis*, *Brettanomyces*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Candida*, *Trichosporon*.
4. **“Alkohol yeast”** yaitu jenis khamir yang berperan dalam fermentasi alkohol, yang terkenal adalah genus *Saccharomyces*.
5. **“Lactose fermenting yeast”** yaitu jenis yeast yang mampu melakukan fermentasi laktosa pada susu, yang telah dikenal adalah *Saccharomyces fragilis* dan *S. lactis*.
6. **“Food dan feed yeast”** yaitu jenis yeast yang dipergunakan untuk bahan pangan pakan, biasanya dalam bentuk protein sel tunggal (PST).

9.4 BAKTERI

Bakteri merupakan mikrobia uniseluler yang termasuk klas *Schizomyces*. Pada umumnya bakteri tidak mempunyai klorophil dan reproduksi aseksual secara pembelahan transferal atau biner.

Berdasarkan sifat-sifatnya, bakteri dapat dibedakan atas dua golongan yaitu bakteri sejati (termasuk ordo Eubacteriales) dan bakteri tingkat tinggi (ordo, Mixobakteriales, Actinomycetales dan Chlamydobakteriales).

Sifat-sifat bakteri yang penting adalah bersifat saprofit atau parasit, patogen terhadap manusia atau hewan atau tumbuh-tumbuhan. Berdasarkan bentuk bakteri, dapat dibedakan atas tiga macam yaitu berbentuk bulat atau coccus, bentuk batang atau silindris atau bentuk lengkung.

Sifat morfologis dapat dipergunakan untuk membantu identifikasi bakteri yang dilakukan secara mikroskopis dengan melihat bentuk, ukuran, terbentuknya agragat, struktur dan reaksi pengecatan.

Sifat-sifat morfologis yang spesifik diantaranya :

1. Pembentukan kapsula (encapsulation)

Adanya kapsula atau lendir yang dikeluarkan oleh bakteri selama pertumbuhan menyebabkan pelendiran pada permukaan makanan. bakteri pembentuk kapsula dan lendir mempunyai sifat lebih tahan terhadap panas dan reagensia tertentu. Terbentuknya lendir dan kapsula tergantung pada pertumbuhan bakteri sehingga faktor-faktor pertumbuhan juga ikut menentukan.

2. Pembentukan endospora

Bakteri pembentuk endospora adalah genera *Bacillus* dan *Clostridium*. Spora yang dibentuk dari spesies yang berbeda bahan dari strain yang berbeda mempunyai sifat ketahanan terhadap panas dan reagensia tertentu juga berbeda, kesemuanya lebih tahan dibandingkan dengan sel vegetatifnya.

Pembentukan spora terjadi pada waktu mencapai fase pertumbuhan "late logarithmic" yaitu pada saat makanan sel hampir habis atau selnya telah tua. Terbentuknya spora dapat ditunjukkan dengan penambahan bahan kimia tertentu sehingga dapat terlihat pertambahan jumlah DNA sel selama sporulasi. Pembentukan spora terjadi pada interval pH tertentu (lebih sempit dibandingkan dengan untuk pertumbuhan sl), adanya oksigen yang cukup untuk bakteri aerob dan tidak adanya oksigen untuk bakteri anaerob, interval suhu

juga lebih sempit dibandingkan untuk pertumbuhan, adanya ion logam tertentu seperti Mn^{++} , tidak terdapat zat penghambat seperti asam lemak, cukup glukosa dan tersedianya nitrogen.

Selama sporulasi protein sel dirubah menjadi protein spora, terbentuknya enzim tertentu, asam dipikolinat (DPA), glukosamin dan asam muramat.

Perkecambahan spora dapat terjadi pada umumnya bila kondisi sesuai dengan kondisi pertumbuhan sel vegetatif, tetapi masih memerlukan kondisi tertentu misalnya pada suhu rendah spora tidak dapat berkecambah. Perkecambahan spora dapat dipercepat dengan adanya jenis asam amino tertentu yaitu 1 – alanin, adenosin, 1 – sistein, 1 – valin, adanya ion Mg^{++} dan Mn^{++} , glukosa, asam dipikolinat dan ion Ca^{++} . Dengan pemanasan yang bersifat “heat shocking / heat activation” dapat mengaktifkan enzim-enzim dormat. Suhu optimal dan waktu pemanasan tersebut tergantung pada sifat bakteri pembentuk spora, untuk bakteri termofil suhunya lebih tinggi dibandingkan dengan mesofil. Perkecambahan dapat dihambat dengan penambahan asam sorbat pada pH asam, dengan penambahan zat yang bersifat kation divalen, pati, asam oleat dan asam linoleat.

“Dormancy” spora dapat diartikan sebagai masa perpanjangan waktu perkecambahan spora karena kondisinya kurang sesuai, misalnya adanya zat penghambat atau kekurangan nutien utama seperti asam-asam amino. Beberapa spora dapat berkecambah tetapi tidak dapat tumbuh karena rusak oleh pemanasan, penyinaran dan adanya agensia tertentu. Perpanjangan waktu berkecambah spora dari beberapa hari sampai beberapa bulan, sebagai contoh pada spora *Bacillus megaterium* mempunyai waktu dormancy selama 3 – 4 bulan, sedang *Clostridium botulinum* dari 15 hari – 72 bulan.

3. Pembentukan agregat sel

Beberapa jenis bakteri dapat membentuk rantai panjang dan bergandengan antara satu sel dengan lainnya, bergerombol sehingga membentuk suatu agregat. Pembentukan agregat tersebut juga memerlukan kondisi tertentu. Jenis bakteri pembentuk agregat lebih

tahan terhadap pemanasan dan agensia tertentu dibandingkan yang terpisah.

Sifat kultural bakteri pangan

Pertumbuhan bakteri pada bahan pangan menyebabkan kenampakan yang kurang menyenangkan karena terbentuknya warna atau terjadi perubahan warna. Selain dapat membentuk warna sehingga berpengaruh terhadap warna bahan pangan, juga ada yang dapat membentuk lapisan tipis (film) pada permukaan cairan, dapat membentuk lendir. Pertumbuhan sel bakteri didalam substrat cair dapat menyebabkan kekeruhan atau pengendapan.

Sifat-sifat fisiologis bakteri pangan

Adanya pertumbuhan bakteri pada bahan pangan menyebabkan perubahan-perubahan baik yang bersifat kimiawi maupun biokimiawi bahan bahkan dapat terjadi perubahan fisis. Perubahan tersebut meliputi hidrolisa komponen-komponen yang bersifat kompleks menjadi komponen yang lebih sederhana, sebagai contoh protein dapat dihidrolisa menjadi polipeptida, asam amino, amonia dan amina, lemak menjadi gliserol dan asam lemak. Reaksi oksidasi reduksi yang dilakukan oleh bakteri untuk pengambilan energi bahan pangan sehingga dapat menghasilkan asam-asam organik, alkohol, aldehid, keton dan gas.

Faktor-faktor yang bersifat menghambat aktifitas bakteri dan pertumbuhan perlu diperhatikan untuk pengawetan bahan pangan. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri adalah jenis atau macam makanan / substrat, air, suhu, konsentrasi ion H (pH), potensial reduksi dan oksidasi dan adanya zat-zat yang bersifat penghambat.

Masing-masing jenis bakteri mempunyai pesyaratan tertentu terhadap kebutuhan makanan (nutrien). Secara umum jika jenis makanan sesuai dengan pertumbuhan bakteri maka interval suhu, pH dan a_w lebih luas. Beberapa jenis bakteri dapat mempergunakan berbagai jenis karbohidrat misalnya bakteri Coliform dan Clostridium, sedang pada pseudomonas hanya mampu tumbuh pada satu atau dua jenis karbohidrat saja. Kebutuhan vitamin untuk masing-masing jenis bakteri

juga berbeda, bahkan ada yang dapat mensintesa vitamin (*Staphylococcus aureus*, *Klesiella*) sedang jenis lain mutlak mempergunakan vitamin (*Pseudomonas* dan *Escherichia*).

Kebutuhan air untuk pertumbuhan bakteri dinyatakan dalam nilai a_w bahan pangan masing-masing jenis berbeda. Untuk semua jenis bakteri relatif membutuhkan a_w yang lebih besar dibandingkan dengan jenis jamur dan khamir, bahkan jenis bakteri dapat tumbuh baik pada a_w mendekati 1,00 (0,995 – 0.998), berarti mempunyai kadar garam dan gula yang rendah. Pada medium yang berkadar gula 3 – 4 persen dan garam sebesar 1 – 2 persen mungkin sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri, persyaratan a_w untuk jenis bakteri *pseudomonas* sebesar 0.97; *Achromobacter* sebesar 0.96; *Escherichia coli* 0.96; *Bacillus subtilis* 0.95; *Aerobacter aerogenes* 0.945; *Staphylococcus* 0.86 dan *Clostridium* 0.95. Beberapa bakteri dapat tumbuh pada a_w kurang dari 0.90.

Masing-masing bakteri mempunyai suhu optimal, minimal dan maksimal untuk pertumbuhan. Berdasarkan suhu pertumbuhan tersebut maka bakteri dapat digolongkan atas tiga golongan yaitu bakteri *psikrofil*, tumbuh baik pada suhu rendah dan mempunyai interval suhu pertumbuhan antara 0 – 15½ °C; bakteri *mesofil*, tumbuh baik pada suhu 20 – 45½ °C; dan bakteri *termofil*, tumbuh baik pada suhu 45 – 65½ °C.

Konsentrasi ion H pada medium pertumbuhan bakteri dinyatakan dalam pH untuk masing-masing bakteri juga berbeda, dan masing-masing mempunyai pH minimal, optimal dan maksimal untuk pertumbuhan. Hampir semua jenis bakteri tumbuh baik pada pH sekitar netral (pH 7.0).

Potensial oksidasi dan reduksi dapat membedakan antara bakteri yang bersifat *aerobik* yaitu yang membutuhkan oksigen bebas untuk pertumbuhannya, bakteri *anaerobik* yaitu yang tidak membutuhkan oksigen bebas dan tumbuh baik bila tanpa oksigen, dan yang tergolong *fakultatif* yaitu yang dapat tumbuh dengan adanya oksigen dan tanpa oksigen. Bakteri yang bersifat *mikroaerofilik* yaitu bakteri yang pertumbuhannya membutuhkan sangat sedikit oksigen bebas. Zat-zat

yang bersifat oksidatif dan reduktif dalam medium dapat bersifat menghambat pertumbuhan bakteri.

Produk yang dihasilkan oleh bakteri selama pertumbuhan dapat menghambat pertumbuhan bakteri itu sendiri. Beberapa jenis makanan telah mempunyai zat yang bersifat menghambat pertumbuhan, misalnya adanya asam benzoat, asam sitrat dan askorbat dalam buah dapat menghambat pertumbuhan. Penambahan zat-zat tertentu selama pengolahan juga dapat menyebabkan penghambatan pertumbuhan bakteri, misalnya propionat selain menghambat jamur juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Bacteriophage adalah virus yang dapat menyebabkan penghancuran sel-sel bakteri. Sampai sekarang penggunaan bakteriophage untuk membunuh bakteri dalam proses pengolahan makanan masih belum dilakukan karena masih belum banyak ditemukan peranan bakteriophage. Yang telah diketahui adalah jenis bakteriophage penyebab penyakit bakteri asam laktat yang dipergunakan starter pada pembuatan keju atau buttermilk. Beberapa jenis phage lain juga telah ditemukan dalam industri antibiotika jenis streptomisin dan industri aseton dan butil alkohol.

Genera-genera bakteri yang penting dalam bidang pangan

Sifat-sifat spesifik masing-masing genera yang penting dalam pengolahan maupun perusak makanan penting diketahui. Penggolongan bakteri menurut klasifikasi dari "Bergeys manual of Determinative of Bacteriologi".

Semua bakteri pangan tergolong dalam kelas *Schizomycetes*, dan hampir semuanya tergolong dalam ordo *Pseudomonadales* dan *Eubacteriales*. Dari golongan bakteri tingkat tinggi yang terkenal di bidang pangan yaitu ordo *Actinomycetales* dan *Chlamydobacteriales*. Familia bakteri yang penting dalam bidang pangan adalah : *Pseudomonadaceae*, *Spirillaceae*, *Achromobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Micrococcaceae*, *Brevibacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Propionibacteriaceae*, *Corynebacteriaceae*, dan *Bacillaceae*.

BAB 10

BAKTERI

10.1 PENDAHULUAN

Beberapa sifat morfologi bakteri sangat penting dalam hubungannya dengan pertumbuhannya pada makanan dan ketahanannya terhadap pengolahan. Sifat-sifat tersebut misalnya bentuk dan pengelompokan sel, susunan dinding sel, pembentukan kapsul, dan pembentukan endospora. Struktur bakteri serta sifat-sifat lainnya termasuk pembentukan flagela telah dijelaskan dalam Bab di depan, sedangkan dalam Tabel 12.1 disajikan fungsi masing-masing struktur pada bakteri.

Bentuk dan Pengelompokan Sel

Bakteri pada umumnya mempunyai ukuran sel 0.5-1.0 μm kali 2.0-5.0 μm , dan terdiri dari tiga bentuk dasar yaitu : (1) bentuk bulat atau kokus (jamak : koki), (2) bentuk batang atau basilus (jamak : basili), dan (3) bentuk spiral. Bakteri ada yang berukuran relatif besar dengan diameter sekitar 5 μm , berukuran sedang seperti bakteri penyebab tifus dan disentri yang mempunyai ukuran 0.5-1 μm kali 2-3 μm , dan berukuran sangat kecil seperti mikoplasma yang mempunyai ukuran diameter 0.1-0.3 μm .

Tabel 10.1 Fungsi struktur permukaan pada sel bakteri

Struktur	Fungsi	Komposisi kimia
Flagela	Pergerakan	Protein
Pili	Saluran konjugasi Adhesi sel	Protein
Kapsul dan komponen ekstraseluler	Pelindung Reseptor Adhesi sel	(?) phage Polisakarida, polipeptida
Dinding sel gram positif	Pelindung phage Reseptor	Peptidoglikan, asam teikhoat
Dinding sel gram negatif	Pelindung Permeabilitas Reseptor phage	Peptidoglikan, lipopolisakarida lipid, protein
Membran plasma dan mesosoma	Permeabilitas Biosintesis	Lipid, protein

Salton (1974)

Bakteri berbentuk bulat dapat dibedakan atas beberapa grup berdasarkan pengelompokan selnya, yang merupakan salah satu sifat yang penting dalam identifikasi, yaitu :

1. Diplokoki : sel berpasangan (dua sel)
2. Streptokoki : rangkaian sel membentuk rantai panjang atau pendek
3. Tetrad : empat sel membentuk pesegi empat
4. Stapilokoki : kumpulan sel yang tidak beraturan seperti buah anggur
5. Sarcinae : kumpulan sel berbentuk kubus yang terdiri dari 8 sel atau lebih

Gambar 12.1 menunjukkan cara pembelahan bakteri bentuk kokus sehingga membentuk pengelompokan seperti tersebut diatas.

Bakteri berbentuk batang mungkin terdapat dalam bentuk berpasangan (diplobasili) atau membentuk rantai (streptobasili). Pengelompokan ini pada beberapa keadaan bukan merupakan sifat

morfologinya, melainkan dipengaruhi oleh tahap pertumbuhan atau kondisi kultur.

A. Diplokoki :



B. Streptokoki :



C. Tetrad :



D. Stapilokoki :



E. Sarcinae :



Gambar 10.1. Cara perkembangbiakan bakteri bentuk kokus (Pelczar et al., 1977)

Bakteri pembentuk spiral (tunggal, spirillum; jamak, spirila) terdapat secara terpisah-pisah (tunggal), tetapi masing-masing spesies berbeda dalam panjang, jumlah, dan amplitudo spiralnya, serta ketegaran dinding selnya. Sebagai contoh, beberapa spesies ukurannya pendek dengan spiral yang padat, sedangkan spesies lainnya mungkin sangat panjang dengan bentuk seperti tali berputar (bergelombang). Bakteri yang ukurannya pendek dengan spiral yang tidak lengkap disebut bakteri koma atau vibrio.

Bakteri berbentuk bulat pada umumnya lebih tahan terhadap proses pengolahan, misalnya pemanasan, pendinginan dan pengeringan, dibandingkan dengan bakteri berbentuk batang. Demikian pula bakteri yang bergerombol (stapilokoki) lebih sukar dibunuh dengan proses

pengolahan dibandingkan dengan bakteri di mana selnya terpisah-pisah atau membentuk rantai.

Susunan Dinding Sel

Bakteri dibedakan atas dua kelompok berdasarkan komposisi dinding sel serta sifat pewarnaannya, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Selain perbedaan dalam sifat pewarnaan bakteri gram positif dan gram negatif juga berbeda dalam sensitivitasnya terhadap kerusakan mekanis / fisis, terhadap enzim, disinfektan dan antibiotik. Beberapa perbedaan sifat-sifat bakteri gram positif dan gram negatif dapat dilihat pada tabel 12.2. Bakteri **gram positif lebih sensitif terhadap penisilin**, tetapi lebih **tahan terhadap perlakuan fisik atau enzim** dibandingkan bakteri gram negatif. Bakteri **gram negatif lebih sensitif** terhadap antibiotik lainnya seperti **streptomisin**.

Tabel 10.2 Perbedaan relatif sifat bakteri gram positif dan gram negatif

Sifat	Perbedaan relatif	
	Bakteri gram positif	Bakteri gram negatif
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1-4%)	Kandungan lipid tinggi (1-22%)
Ketahanan terhadap penisilin	Lebih sensitif	Lebih tahan
Penghambatan oleh pewarna basa (misalnya violet kristal)	Lebih dihambat	Kurang dihambat
Kebutuhan nutrien	Kebanyakan spesies relatif kompleks	Relatif sederhana
Ketahanan terhadap perlakuan fisik	Lebih tahan	Kurang tahan

Pembentukan Kapsul

Pembentukan kapsul oleh bakteri dipengaruhi oleh medium pertumbuhan dan mungkin kondisi lingkungannya. Beberapa spesies bakteri, misalnya *Lactobacillus bulgaricus* membentuk kapsul jika ditumbuhkan pada susu, tetapi tidak membentuk kapsul jika ditumbuhkan pada medium laboratorium, misalnya Nutrient Broth. Kapsul

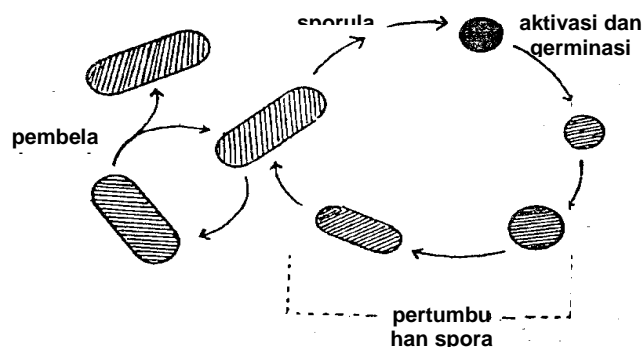
terutama terdiri dari polisakarida, dan mungkin polipeptida atau kompleks polisakarida – protein. Beberapa macam polisakarida yang mungkin menyusun kapsul adalah dekstran, levan, dan selulosa. *Bacillus anthracis* memproduksi kapsul polipeptida yang merupakan polimer dari asam D-glutamat. Pneumokoki dibedakan atas 70 tipe yang berbeda berdasarkan perbedaan dalam komposisi kapsulnya.

Bakteri pembentuk kapsul jika tumbuh pada suatu medium akan membentuk koloni yang bersifat mukoid, sedangkan jika tumbuh pada makanan menyebabkan makanan menjadi berlendir. Pembentukan kapsul oleh bakteri meningkatkan ketahanan bakteri terhadap panas, bahan kimia, maupun sel fagosit jika bakteri tersebut masuk ke dalam tubuh.

Pembentukan Endospora

Endospora bakteri mulai terbentuk pada akhir fase logaritmik. Ciri-ciri endospora bakteri adalah sebagai berikut :

1. Dibentuk oleh sel basilus, misalnya yang sering ditemukan pada makanan terutama adalah dari jenis *Bacillus* dan *Clostridium*.
2. Endospora bakteri sangat tahan terhadap pemanasan, pengeringan dan desinfektan.
3. Endospora sukar untuk diwarnai, tetapi sekali diwarnai sukar untuk dihilangkan.
4. Dibentuk pada kondisi yang tidak memungkinkan untuk pertumbuhan sel vegetatif (gambar 12.2.)



Gambar 10.2. Bagan pembentukan spora, germinasi, dan pertumbuhan spora germinasi pada bakteri

5. Bentuk dan posisi spora di dalam sel mungkin berbeda pada masing-masing spesies (gambar 12.3). Spora mungkin terletak pada ujung atau di tengah sel, dan sel vegetatif yang mengandung spora mungkin mengalami pembengkakan atau ukurannya tetap sama. Sifat-sifat ini dapat digunakan untuk identifikasi bakteri.



Gambar 10.3. Berbagai bentuk dan lokasi spora di dalam sel beberapa spesies *Bacillus* dan *Clostridium* (Pelczar et al., 1977)

Endospora mengandung ion kalsium dan DPA (dipicolinic acid) dalam jumlah relatif tinggi, karena selama pembentukan spora terjadi kenaikan absorpsi ion kalsium dan sintesis DPA. Endospora tidak melakukan aktivitas metabolisme. Oleh karena itu, bersifat dorman. Pada waktu germinasi, sifat dorman endospora hilang, sehingga sudah mulai terjadi aktivitas metabolisme yang mengakibatkan sel dapat tumbuh. Proses germinasi dirangsang oleh perlakuan kejutan panas (*heat shock*) pada suhu subletal (tidak mematikan), adanya asam amino, glukosa, dan ion-ion magnesium dan mangan. Perbedaan sifat-sifat sel vegetatif dan endospora dapat dilihat pada tabel 12.3.

Tabel 10.3 Perbedaan sifat-sifat antara sel vegetatif dengan endospora bakteri

Sifat	Sel vegetatif	Endospora
Struktur	Sel bakteri gram positif	Korteks tebal selubung spora eksosporium (beberapa sp.)
Mikroskopis	Nonrefraktil	Refraktil
Komposisi kimia :		
Kalsium	Rendah	Tinggi
Asam dipikolinat	Tidak ada	Ada
Parahidroksi benzoat	Ada	Tidak ada
Polisakarida	Tinggi	Rendah
Protein	Lebih rendah	Lebih tinggi

Asam amino sulfur	Rendah	Tinggi
Aktivitas enzimatis	Tinggi	Rendah
Metabolisme (pengambilan O ₂)	Tinggi	Rendah atau tidak ada
Sintesis makromolekul mRNA	Ada	Tidak ada
Ketahanan panas	Ada	Rendah atau tidak ada
Ketahanan radiasi	Rendah	Tinggi
Ketahanan terhadap bahan kimia dan asam	Rendah	Tinggi
Kemampuan untuk diwarnai	Mudah	Hanya dengan metode tertentu
Hidrolisis oleh lisozim	Sensitif	tahan

Brock (1974)

10.2 PERTUMBUHAN BAKTERI PADA MAKANAN

Bakteri tumbuh dengan cara pembelahan biner, yang berarti satu sel membelah menjadi dua sel (gambar 12.4). Waktu generasi, yaitu waktu yang dibutuhkan oleh sel untuk membelah, bervariasi tergantung dari spesies dan kondisi pertumbuhan. Tabel 12.4 menunjukkan waktu generasi beberapa bakteri yang sering ditemukan di dalam makanan jika ditumbuhkan pada medium dan suhu tertentu.

Semua bakteri yang tumbuh pada makanan bersifat heterotropik, yaitu membutuhkan zat organik untuk pertumbuhannya. Dalam metabolismenya bakteri heterotropik menggunakan protein, karbohidrat, lemak dan komponen makanan lainnya sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya. Beberapa bakteri dapat mengoksidasi karbohidrat secara lengkap menjadi CO₂ dan H₂O, atau memecahnya menjadi asam, alkohol, aldehida atau keton. Bakteri juga dapat memecah protein yang terdapat di dalam makanan menjadi polipeptida, asam amino, amonia, dan amin. Beberapa spesies tertentu dapat memecah lemak menjadi gliserol dan asam lemak. Meskipun bakteri membutuhkan vitamin untuk proses metabolismenya, beberapa dapat mensintesis vitamin-vitamin tersebut dari komponen lainnya di dalam medium. Bakteri lainnya tidak dapat tumbuh jika tidak ada vitamin di dalam mediumnya. Vitamin yang dibutuhkan oleh beberapa bakteri dapat dilihat pada tabel 12.5.

Tabel 10.4. Waktu generasi beberapa spesies bakteri

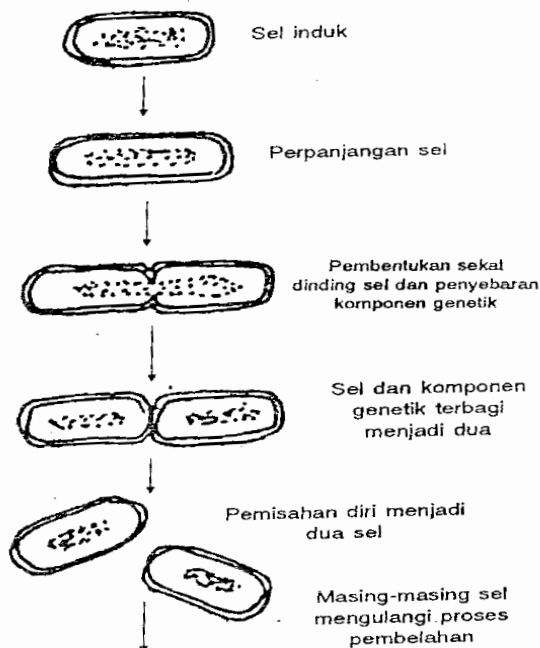
Bakteri	Medium	Suhu (°C)	Waktu generasi (menit)
<i>Bacillus mycoides</i>	Broth	37	28
<i>B. thermophilus</i>	Broth	55	18.3
<i>Escherichia coli</i>	Broth	37	17
	Susu	37	12.5
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Susu	37	66-87
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Sintetik	37	792-932
<i>Staphylococcus aureus</i>	Broth	37	27-30
<i>Streptococcus lactis</i>	Broth	37	48
	Susu	37	26

Pelczar et al. (1977)

Tabel 10.5. Vitamin yang dibutuhkan oleh beberapa bakteri

Bakteri	Vitamin yang dibutuhkan
<i>Bacillus anthracis</i>	Thiamin (B ₁)
<i>Clostridium tetani</i>	Ribovitamin (B ₂)
<i>Brucella abortus</i>	Niasin
<i>Lactobacillus sp.</i>	Piridoksin
	Kobalamin
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Biotin
<i>Proteus morganii</i>	Asam pantothemat
<i>Leuconostoc dextranicum</i>	Asam folat

Pelczar et al. (1977)



Gambar 10.4. Pembelahan biner pada bakteri (Pelczar et al., 1977)

Jika tumbuh pada bahan pangan, bakteri dapat menyebabkan berbagai perubahan pada penampilan maupun komposisi kimia dan cita-rasa bahan pangan tersebut. Perubahan yang dapat terlihat dari luar misalnya perubahan warna, pembentukan film atau lapisan pada permukaan seperti pada minuman atau makanan cair / padat, pembentukan lendir, pembentukan endapan atau kekeruhan pada minuman, pembentukan gas, bau asam, bau alkohol, bau busuk, dan berbagai perubahan lainnya.

10.3 KLASIFIKASI BAKTERI

Bakteri diberi nama yang terdiri dari nama jenis (genus), spesies dan galur (strain). Nama spesies kadang-kadang menunjukkan sifat, warna atau penemunya. Sebagai contoh, *Mycobacterium tuberculosis* (penyebab tuberkulosis), *Streptococcus albus* (berwarna putih), *Bacillus*

stearothermophilus (bersifat termofilik), *Clostridium welchii*, dan *Propionibacterium shermanii*.

Bakteri tergolong dalam kelas Schizomycetes dan terdiri dari beberapa ordo, yaitu :

1. Pseudomonadales
2. Eubacteriales
3. Actinomycetales
4. Chlamydobacteriales
5. Myxobacteriales
6. Spirochaetales

Anggota dari ordo Pseudomonadales dan Eubacteriales sering tumbuh pada makanan, dan beberapa penting dalam industri pangan. Hanya beberapa anggota dari Actinomycetales dan Chlamydobacteriales yang penting dalam mikrobiologi pangan, sedangkan anggota dari kedua ordo terakhir yaitu Myxobacteriales dan Spirochaetales tidak umum dijumpai pada makanan.

Dalam Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, bakteri dikelompokkan berdasarkan grup menurut bentuk, sifat pewarnaan gram, dan kebutuhannya akan oksigen.

Jenis bakteri yang dijumpai pada makanan menurut famili dapat dilihat pada tabel 12.6, sedangkan pengelompokannya adalah sebagai berikut :

1. Bakteri basili dan koki gram negatif, aerobik
2. Bakteri basili gram negatif, anaerobik fakultatif
3. Bakteri basili gram negatif, anaerobik
4. Bakteri basili dan kokobasili gram negatif
5. Bakteri koki gram positif
6. Bakteri basili gram positif, tidak berspora
7. Bakteri basili gram positif, berspora
8. Bakteri dengan sel bercabang atau bertugas

10.4 BAKTERI BASILI DAN KOKI GRAM NEGATIF, AEROBIK

Jenis bakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah :

Famili Pseudomonadaceae

Pseudomonas

Xanthomonas

Gluconobacter

Famili Halobacteriaceae

Halobacterium

Halococcus

Famili tidak menentu

Alcaligenes

Acetobacter

Brucella

Semua bakteri dalam kelompok ini bersifat aerobik, dan yang sering ditemukan pada makanan merupakan flora normal pada tanah dan air. Salah satu jenis, yaitu *Brucella*, merupakan patogen pada hewan. Jenis dalam kelompok ini umumnya tumbuh cepat pada makanan.

Kebanyakan jenis dalam kelompok ini dapat mengoksidasi gula, tetapi *Gluconobacter* dan *Acetobacter* dapat mengoksidasi etanol menjadi asam asetat. Oleh karena itu, penting dalam industri asam asetat (cuka). Bakteri dalam kelompok ini dapat mengoksidasi asam amino secara lengkap menjadi CO_2 dan H_2O dengan membebaskan amonia, atau kadang-kadang melepaskan H_2S jika asam aminonya mengandung grup sulfhidril. Kebanyakan jenis dalam kelompok ini dapat tumbuh pada medium sederhana yang hanya terdiri dari mineral penting, amonia dan karbohidrat atau asetat sebagai sumber karbon. Suhu optimum, kecuali yang bersifat patogen, adalah 20-30°C, meskipun beberapa jenis dapat tumbuh pada suhu di bawah 0°C.

Tabel 10.6. Jenis bakteri yang ditemukan pada makanan menurut famili

Famili	Jenis	Famili tidak menentu
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	Alcaligenes
	<i>Xanthomonas</i>	Brucella
	<i>Gluconobacter</i>	Acetobacter
Halobacteriaceae	<i>Halobacterium</i>	
	<i>Halococcus</i>	
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia</i>	
	<i>Edwardsiella</i>	
	<i>Citrobacter</i>	
	<i>Salmonella</i>	
	<i>Shigella</i>	
	<i>Klebsiella</i>	
	<i>Enterobacter</i>	
	<i>Hafnia</i>	
	<i>Serratia</i>	
	<i>Proteus</i>	
	<i>Yersinia</i>	
	<i>Erwinia</i>	
Vibrionaceae	<i>Vibrio</i>	Zymomonas
	<i>Aeromonas</i>	Flavobacterium
	<i>Photobacterium</i>	Chromobacterium
	<i>lucibacterium</i>	
Bacteroidaceae	<i>Bacteroides</i>	Desulfovibrio
Neisseriaceae	<i>Moraxella</i>	
	<i>Acinetobacter</i>	
Micrococcaceae	<i>Micrococcus</i>	
	<i>Straphylococcus</i>	
Streptococcaceae	<i>Streptococcus</i>	
	<i>Leuconostoc</i>	
	<i>Pediococcus</i>	
	<i>Aerococcus</i>	
Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	
	<i>Sporolactobacillus</i>	
	<i>Clostridium</i>	
	<i>Desulfatovaculum</i>	
Lactobacillaceae	<i>Lactobacillus</i>	
Grup Coryneform	<i>Corynebacterium</i>	Brevibacterium

e	Mycobacteriaceae Streptomycetacea Rickettsieae Spirochaetaceae	<i>Kurthia</i> <i>Mycobacterium</i> <i>Streptomyces</i> <i>Coxiella</i> <i>Leptospira</i>	Microbacterium
---	---	---	----------------

Ayres et al. (1980)

Pseudomonas

Pseudomonas merupakan salah satu jenis dalam kelompok ini yang sering menimbulkan kebusukan makanan. Bakteri ini bersifat motil dengan flagela polar. Sifat-sifat *Pseudomonas* yang penting yang mempengaruhi pertumbuhannya pada makanan adalah sebagai berikut :

1. Umumnya mendapatkan sumber karbon dari senyawa yang bukan karbohidrat.
2. Dapat menggunakan senyawa-senyawa sumber nitrogen sederhana.
3. Kebanyakan spesies tumbuh baik pada suhu rendah (bersifat psikrofilik atau mesofilik dengan suhu optimum relatif rendah), kecuali *P. aeruginosa* dan *P. fluorescens* yang dapat tumbuh pada suhu 37°C.
4. Memproduksi senyawa-senyawa yang menimbulkan bau busuk.
5. Dapat mensintesis faktor-faktor pertumbuhan dan vitamin.
6. Beberapa spesies bersifat proteolitik (memecah protein) dan lipolitik (memecah lemak), atau pektinolitik (memecah pektin).
7. Pertumbuhan pada kondisi aerobik berjalan cepat, dan biasanya membentuk lendir.
8. Beberapa spesies memproduksi pigmen, misalnya *P. fluorescens* memproduksi pigmen fluoresein yang bersifat fluorecens dan larut air, *P. nigrificiens* memproduksi pigmen hitam, dan *P. aeruginosa* memproduksi pigmen piosianin yang berwarna biru.
9. Kebanyakan *Pseudomonas*, kecuali *P. syringe*, bersifat oksidase positif, dan akan membentuk warna biru jika ditambahkan senyawa dimetil-p-fenilenediamin dihidroklorida.
10. Tidak tahan terhadap panas dan keadaan kering. Oleh karena itu, mudah dibunuh dengan proses pemanasan dan pengeringan.

Gluconobacter dan Acetobacter

Jenis *Gluconobacter* (dulu disebut *Acetomonas*) dan *Acetobacter* bersifat motil (polar) atau nonmotil, dan memproduksi asam asetat dari etanol. Spesies yang sering digunakan dalam industri asam asetat (cuka) adalah *C. suboxydans* dan *A. aceti*. *G. oxydans* sering menimbulkan masalah pada industri bir karena sering tumbuh pada bir dengan membentuk lendir. *A. xylinum* memproduksi kapsul secara berlebihan dan digunakan dalam pembuatan nata de coco.

Halobacterium dan Halococcus

Halobacterium dan *Halococcus* adalah termasuk dalam kelompok bakteri yang bersifat halofilik, yaitu dapat tumbuh pada konsentrasi NaCl dengan kisaran 3.5% sampai jenuh. Bakteri ini ditemukan dalam air laut dan garam. Salah satu spesies yaitu *Halobacterium salinarum* bersifat halofilik obligat, kromogenik (memproduksi pigmen), dan sering ditemukan pada ikan asin.

Alcaligenes

Alcaligenes merupakan jenis bakteri yang sering menimbulkan masalah pada pendinginan makanan karena bakteri ini bersifat psikrotropik. Kebanyakan spesies bersifat proteolitik, yaitu memecah protein menjadi asam amino, pepton kemudian amonia, sehingga menghasilkan reaksi alkali. Beberapa spesies memproduksi pigmen. *A. viscolactis* / *viscosus* sering menimbulkan lendir pada susu, sedangkan *A. metalcaligenes* sering tumbuh pada keju.

10.5 BAKTERI BASILI GRAM NEGATIF, ANAEROBIK FAKULTATIF

Jenis bakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah :

Famili Enterobacteriaceae

Escherichia

Edwardsiella

Citrobacter

Salmonella

Shigella
Klebsiella
Enterobacter
Hafnia
Serratia
Proteus
Yersinia
Erwinia
Famili Vibrionaceae
Vibrio
Aeromonas
Photobacterium
Lucibacterium
Famili tidak menentu
Zymomonas
Chromobacterium
Flavobacterium

Bakteri dalam kelompok ini tumbuh pada kondisi aerobik maupun anaerobik. Pada kondisi aerobik, bakteri ini mengoksidasi asam amino, sedangkan jika tidak terdapat oksigen, metabolisme menjadi bersifat fermentatif, dan energi diproduksi dengan cara memecah gula menjadi asam organik. Hampir semua spesies dalam kelompok ini dapat tumbuh pada medium sederhana pada kisaran pH dan suhu yang luas, yaitu mulai suhu kurang dari 10°C sampai lebih dari 40°C.

Enterobacteriaceae

Kebanyakan anggota dari famili Enterobacteriaceae mempunyai flagela monotrikat, kecuali *Shigella* yang tidak mempunyai flagela. Jenis *Escherichia*, *Enterobacter* (dahulu disebut *Aerobacter*) dan *Klebsiella* disebut kelompok bakterio koli (koliform), dan sering digunakan dalam uji sanitasi air dan susu. Jenis *Escherichia* hanya mempunyai satu spesies yaitu *E. coli*, dan disebut koliform fekal karena ditemukan di dalam saluran usus hewan dan manusia, sehingga sering terdapat di dalam feses. Bakteri ini sering digunakan sebagai indikator kontaminasi kotoran.

Spesies *Enterobacter* misalnya *E. aerogenes* disebut koliform nonfekal karena tidak merupakan flora normal di dalam saluran pencernaan, melainkan ditemukan pada tanaman / hewan yang telah mati, dan sering menimbulkan lendir pada makanan. Jenis *Klebsiella* mempunyai kapsul dan sering ditemukan dalam saluran pernapasan dan usus. Salah satu spesiesnya, yaitu *K. pneumoniae* menyebabkan pneumonia pada manusia.

Salmonella, *Shigella* dan *Yersinia* merupakan bakteri patogen yang berbahaya. *Salmonella* selain dapat menyebabkan gejala gastrointestinal (gangguan perut), juga menyebabkan demam tifus (*S. typhi*) dan paratifus (*S. paratyphi*). Spesies-spesies lainnya misalnya *S. pullorum*, *S. gallinarum*, dan banyak spesies lainnya. *Shigella*, misalnya *S. dysenteriae*, dapat menyebabkan disentri basiler, sedangkan *Yersinia* (dahulu *Pasteurella*), misalnya *Y. enterocolitica* dapat menyebabkan gejala gastrointestinal. *Shigella* dapat dibedakan dari *Salmonella* dan *Yersinia* karena *Shigella* tidak mempunyai flagela (non motil), sedangkan *Salmonella* dan *Yersinia* bersifat motil dengan flagela peritrikat.

Proteus merupakan bakteri proteolitik yang sering menyebabkan kebusukan pada daging, telur dan makanan laut. Beberapa contoh spesies dari jenis ini misalnya *P. vulgaris* dan *P. mirabilis*.

Serratia jika tumbuh pada makanan menyebabkan timbulnya warna merah karena bakteri ini pada umumnya memproduksi pigmen merah, tetapi beberapa galur koloninya berwarna putih. Bakteri ini bersifat proteolitik dan membentuk kapsul, dan salah satu spesies yang sering ditemukan pada makanan adalah *S. marcescens*.

Erwinia merupakan patogen pada tanaman. Oleh karena itu, sering ditemukan pada sayur-sayuran. Spesies bakteri ini pada umumnya bersifat pektinolitik, proteolitik, dan beberapa bersifat lipolitik. Salah satu spesies, yaitu *E. carotovora* jika tumbuh pada sayuran, terutama wortel, dapat menyebabkan timbulnya busuk air atau busuk lunak (*soft rots*).

Vibrionaceae

Anggota dalam famili Vibrionaceae pada umumnya mempunyai flagela polar, bersifat oksidase positif dan fermentatif. Dua spesies dari *Vibrio*, yaitu *V. cholerae* dan *V. parahaemolyticus* merupakan bakteri

patogen yang berbahaya bagi manusia, di mana *V. cholerae* dapat menyebabkan penyakit kolera dan kolera eltor (oleh *V. Cholerae* El Tor). *V. parahaemolyticus* sering ditemukan pada makanan-makanan laut, dan pertumbuhannya dirangsang dengan adanya garam.

Famili Tidak Menentu

Flavobacterium sering tumbuh pada makanan dan membentuk pigmen kuning, oranye, merah dan coklat. *Zymomonas*, misalnya *Z. mobilis*, sering tumbuh pada sari buah dan menyebabkan fermentasi seperti khamir, yaitu menghasilkan etanol, CO₂ dan sedikit asam laktat.

10.6 BAKTERI BASILI GRAM NEGATIF, ANAEROBIK

Jenis bakteri yang termasuk dalam kelompok ini, misalnya :

Bacteroides

Fusobacterium

Desulfovibrio

Bacterioides banyak terdapat pada saluran usus manusia, dan telah ditemukan pada daging, susu, dan produk susu. *Fusobacterium* menyebabkan infeksi mulut, dan dapat ditularkan melalui alat-alat makan dan ciuman. *Desulfovibrio* mereduksi sulfat menjadi sulfida, dan jika tumbuh pada piket, sulfida akan bereaksi dengan besi membentuk ferrosulfida yang berwarna hitam.

10.7 BAKTERI BASILI DAN KOKOBASILI GRAM NEGATIF

Bakteri dalam kelompok ini berbentuk batang, tetapi beberapa bentuknya sangat pendek sehingga hampir bulat (kokobasili). Dua dari empat jenis yang termasuk dalam grup ini ditemukan pada makanan, tetapi tidak menyebabkan perubahan cita-rasa, tekstur atau bau, misalnya *Moraxella* dan *Acinetobacter*.

10.8 BAKTERI KOKI GRAM POSITIF

Jenis bakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah :

Famili Micrococcaceae

Micrococcus

Staphylococcus

Famili Streptococcaceae

Streptococcus

Leuconostoc

Pediococcus

Aerococcus

Famili Micrococcaceae bersifat aerobik dan katalase positif, sedangkan famili Streptococcaceae bersifat fermentatif dan tidak membutuhkan oksigen, meskipun tidak akan mati dengan adanya oksigen.

Anggota dari famili Streptococcaceae bersifat katalase negatif, berbentuk kokus dalam rangkaian membentuk rantai atau tetrad. Bakteri ini tidak mempunyai beberapa atau semua komponen sitokroma. Oleh karena itu, tidak dapat menggunakan oksigen, dan mungkin hanya sedikit sekali menggunakan asam amino untuk energi. Energi diperoleh dengan cara fermentasi gula, dan kebanyakan spesies bakteri ini memproduksi asam berlebihan sehingga menurunkan pH medium sampai di bawah 5.0.

Micrococcus

Micrococcus merupakan bakteri berbentuk bulat yang hidup secara menggerombol tidak teratur, atau membentuk paket atau tetrad. Bakteri ini bersifat gram positif, aerobik, dan katalase positif. Kebanyakan spesies *Micrococcus* membentuk pigmen berwarna kuning (misalnya *M. Flavus*), oranye, merah, atau merah muda (misalnya *M. Roseus*). Bakteri ini mempunyai suhu optimum pertumbuhan 25-30°C, masih dapat tumbuh pada suhu 10°C, tetapi tidak dapat tumbuh pada suhu 46°C. Oleh karena itu, dapat dibedakan dari stafilokoki. *Micrococcus* dapat

mengoksidasi glukosa menjadi asam, kebanyakan bersifat proteolitik, tetapi hanya beberapa yang bersifat lipolitik.

Sifat-sifat mikrokoki yang menjadikan bakteri ini penting dalam mikrobiologi pangan adalah sebagai berikut :

1. Beberapa spesies dapat menggunakan garam amonium atau senyawa nitrogen sederhana lainnya sebagai satu-satunya sumber nitrogen.
2. Kebanyakan spesies dapat memfermentasi gula dengan memproduksi sejumlah asam.
3. Beberapa bersifat proteolitik asam, yaitu memecah protein dengan membentuk asam, misalnya *M. freudenreichii*.
4. Beberapa spesies sangat tahan garam, dan dapat tumbuh pada substrat dengan nilai aw rendah, misalnya pada proses kuring daging atau fermentasi garam.
5. Banyak spesies *Micrococcus* yang bersifat termotoleran, yaitu tahan proses pasteurisasi susu, misalnya *M. varians*.
6. Banyak spesies yang membentuk warna sehingga jika tumbuh pada makanan dapat menyebabkan perubahan warna makanan.
7. Beberapa mikrokoki masih dapat tumbuh pada suhu pendinginan, misalnya 10°C atau kurang.

Mikrokoki ditemukan tersebar di alam, dan banyak ditemukan dalam debu dan air. Bakteri ini juga sering ditemukan pada berbagai bahan pangan segar.

Staphylococcus

Staphylococcus merupakan bakteri berbentuk bulat yang terdapat dalam bentuk tunggal, berpasangan, tetrad, atau berkelompok seperti buah anggur. Nama bakteri ini berasal dari bahasa Latin "staphyle" yang berarti anggur. Beberapa spesies memproduksi pigmen berwarna kuning sampai oranye, misalnya *S. aureus*. Bakteri ini membutuhkan nitrogen organik (asam amino) untuk pertumbuhannya, dan bersifat anaerobik fakultatif.

Kebanyakan galur *S. aureus* bersifat patogen dan memproduksi enterotoksin yang tahan panas, di mana ketahanan panasnya melebihi sel vegetatifnya. Beberapa galur, terutama yang bersifat patogenik,

memproduksi koagulase (menggunakan plasma), bersifat proteolitik, lipolitik, dan betahemolitik. Spesies lainnya, yaitu *S. epidermidis*, biasanya tidak bersifat patogen dan merupakan flora normal yang terdapat pada kulit tangan dan hidung.

Streptococcus

Streptococcus merupakan bakteri berbentuk bulat yang hidup secara berpasangan, atau membentuk rantai pendek dan panjang, yaitu tergantung dari spesies dan kondisi pertumbuhannya. Bakteri ini bersifat homofermentatif, dan beberapa spesies memproduksi asam laktat secara cepat pada kondisi anaerobik. Oleh karena itu, sering digunakan dalam pengawetan makanan, terutama untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan pembentuk racun. Kebanyakan spesies bakteri ini bersifat proteolitik, dan biasanya bersifat lipolitik.

Streptokoki dapat dibedakan berdasarkan reaksi serologi menjadi beberapa grup Lancefield, yaitu grup A, B, C, D, dan seterusnya. Tetapi streptokoki yang penting dalam makanan dibedakan atas empat grup berdasarkan sifat fisiologi dan sifat hemolitiknya, yaitu sebagai berikut :

1. Grup piogenik
2. Grup viridan
3. Grup laktat
4. Grup enterokokus

Grup enterokokus mempunyai beberapa sifat penting yang menjadikan bakteri ini penting dalam mikrobiologi pangan, yaitu :

1. Bersifat termotoleran sehingga tahan suhu pasteurisasi atau suhu yang lebih tinggi.
2. Tahan terhadap garam dengan konsentrasi 6.5% atau lebih.
3. Dapat tumbuh pada pH alkali, yaitu pH 9.6.
4. Dapat tumbuh pada kisaran suhu yang luas, yaitu mulai dari 5-8°C sampai suhu 48-50°C.

Beberapa spesies yang terdapat dalam grup enterokokus misalnya *S. faecalis* dan *S. faecium*, serta beberapa subspecies lainnya. *S. faecalis* dan *S. faecium* mempunyai sifat-sifat yang hampir sama, tetapi *S. faecalis* biasanya lebih tahan panas dan berasal dari

kotoran manusia, sedangkan *S. faecium* lebih banyak ditemukan pada tanaman.

S. faecalis subsp. *liquefaciens* merupakan varietas yang bersifat proteolitik-asam, sedangkan *S. faecalis* subsp. *zymogenes* merupakan varietas yang bersifat beta-hemolitik. Kedua subspecies tersebut sebelumnya masing-masing disebut *S. liquefaciens* dan *S. zymogenes*. *S. faecalis* dan *S. faecium* sering ditemukan pada bahan pangan mentah.

Karena grup enterokoki berasal dari saluran pencernaan hewan dan manusia, maka bakteri ini terutama *S. faecalis* sering digunakan sebagai indikator kontaminasi kotoran pada bahan pangan. Bakteri ini juga dapat hidup pada produk-produk olahan susu dan sering mengkontaminasi peralatan pengolahan pangan.

Leuconostoc

Leuconostoc merupakan jenis bakteri yang bersifat heterofermentatif, yaitu memfermentasi gula menjadi asam laktat, CO₂ dan etanol atau asam asetat. Sifat-sifat *Leuconostoc* yang penting dalam mikrobiologi pangan, baik yang merugikan maupun yang menguntungkan, adalah sebagai berikut :

1. Dapat memfermentasi asam sitrat menjadi diasetil, misalnya oleh *L. dextranicum* dan *L. cremoris*, sehingga sering digunakan dalam pembuatan keju untuk meningkatkan citarasa.
2. Tahan garam sehingga sering berperan dalam fermentasi awal produk yang mengandung garam, misalnya *L. mesenteroides* pada sauerkraut dan pickel.
3. Dapat memulai fermentasi dengan cepat sehingga menghambat bakteri lain yang tidak diinginkan tumbuh selama fermentasi.
4. Tahan konsentrasi gula tinggi, misalnya *L. mesenteroides* yang tahan konsentrasi gula 55-60%, sehingga dapat tumbuh pada sirup, es krim, adonan kue, dan sebagainya.
5. Produksi gas CO₂ dari gula dalam jumlah tinggi, sehingga jika mengkontaminasi makanan mengakibatkan hal-hal yang tidak diinginkan seperti pembentukan mata (lubang-lubang) pada keju yang terlalu besar, kerusakan makanan yang kandungan gulanya

tinggi (sirup, adonan kue dan sebagainya), dan pengembangan roti yang berlebihan.

6. Produksi lendir yang berlebihan pada makanan yang mengandung sukrosa. Sebaliknya, sifat memproduksi lendir yang terdiri dari dekstran ini menguntungkan untuk industri dekstran.

Aerococcus dan Pediococcus

Bakteri ini bersifat homofermentatif, yaitu memecah gula menjadi asam laktat sampai mencapai konsentrasi 0.5-0.9%, dan tumbuh baik pada konsentrasi garam sampai 5.5%. Oleh karena itu, sering digunakan sebagai kultur starter dalam fermentasi daging (sosis), misalnya *P. cerevisiae*. *Aerococcus* dan *Pediococcus* pada umumnya membentuk tetrad, tetapi beberapa spesies *Pediococcus* membentuk rantai pendek.

Pediococcus tumbuh pada kisaran suhu 7-45°C, dengan suhu optimum 25-32°C. *P. cerevisiae* sering tumbuh pada pickel, dan menyebabkan kerusakan pada bir dengan memproduksi diasetil dalam jumlah tinggi. Bakteri ini sering ditemukan pada makanan-makanan fermentasi yang terbuat dari kedelai dengan kandungan garam tinggi, misalnya kecap.

10.9 BAKTERI BASILI GRAM POSITIF, TIDAK BERSPORA

Jenis yang termasuk dalam golongan kelompok ini misalnya *Lactobacillus*, tergolong dalam famili Lactobacillaceae. Bakteri ini berbentuk batang yang panjang, anaerobik fakultatif, dan katalase negatif. Bakteri ini menyerupai streptokoki dalam kebutuhannya akan nutrisi.

Spesies dalam jenis *Lactobacillus* banyak yang dapat mensintesis vitamin sehingga digunakan dalam analisis vitamin, dan banyak yang bersifat termotoleran, yaitu tahan suhu pasteurisasi. *Lactobacillus* sering ditemukan pada makanan, misalnya pada permukaan sayuran (berperan dalam fermentasi pickel), dan pada susu serta produk-produk susu.

Jenis *Lactobacillus* dapat dibedakan atas dua kelompok, yaitu :
(1) bersifat homofermentatif, dan (2) bersifat heterofermentatif. Bakteri

homofermentatif memecah gula terutama menjadi asam laktat, dan dapat tumbuh pada suhu 37°C atau lebih. Spesies yang tergolong homofermentatif misalnya :

L. bulgaricus (fermentasi yogurt)

L. lactis

L. acidophilus (fermentasi susu acidophilus)

L. thermophilus (bersifat termofilik)

L. delbrueckii

Laktobasili yang bersifat homofermentatif dan mempunyai suhu optimum pertumbuhan yang lebih rendah misalnya *L. casei*, *L. plantarum* dan *L. leichmanii*.

Bakteri yang tergolong heterofermentatif memecah gula menjadi asam laktat dan produk-produk lain seperti alkohol, asetat dan karbon dioksida. Spesies yang tergolong heterofermentatif misalnya *L. fermentum* yang digunakan untuk membentuk gas dalam produksi keju Swiss dan tumbuh baik pada suhu di atas 37°C *L. brevis*, dan beberapa spesies lainnya.

Sumber utama dari laktobasili adalah permukaan tanaman (sayuran) manur, dan produk-produk susu. Laktobasili mempunyai beberapa sifat-sifat yang menjadikan bakteri ini penting dalam mikrobiologi pangan, yaitu :

1. Dapat memfermentasi gula dengan menghasilkan sejumlah asam laktat sehingga dapat digunakan dalam produksi makanan-makanan fermentasi, tetapi sebaliknya, produksi asam laktat ini juga menyebabkan kerusakan pada minuman anggur dan bir.
2. Laktobasili heterofermentatif memproduksi gas dan senyawa-senyawa volatil lainnya yang penting sebagai pembentuk cita-rasa dalam makanan-makanan fermentasi, misalnya *L. fermentum* pada keju Swiss.
3. Ketidakmampuan untuk mensintesis vitamin-vitamin yang dibutuhkan menyebabkan bakteri ini tidak dapat tumbuh pada makanan-makanan yang kandungan vitaminnya rendah, tetapi sebaliknya bakteri ini dapat digunakan dalam analisis kandungan vitamin pada bahan pangan.

4. Sifat ketahanan panas atau termotoleran dari kebanyakan spesies laktobasili yang tumbuh pada suhu tinggi menyebabkan bakteri ini tahan terhadap proses pasteurisasi.

10.10 BAKTERI PEMBENTUK SPORA

Bakteri pembentuk spora tergolong dalam famili Bacillaceae, dan yang ditemukan pada makanan terutama terdiri dari tiga jenis yaitu :

Bacillus

Clostridium

Desulfatoma

Bacillus

Jenis *Bacillus* terdiri dari 22 spesies, dimana banyak diantaranya ditemukan pada makanan. Bakteri ini bersifat aerobik sampai anaerobik fakultatif, katalase positif, dan kebanyakan bersifat gram positif, hanya beberapa bersifat gram variabel. Bentuk spora yang diproduksi oleh *Bacillus* bermacam-macam, tergantung dari spesiesnya.

Spesies dari jenis *Bacillus* juga berbeda-beda dalam sifat pertumbuhannya. Beberapa bersifat mesofilik, misalnya *B. Subtilis*, yang lainnya bersifat termofilik fakultatif misalnya *B. Coagulans*, atau termofilik misalnya *B. Stearothermophilus*, *B. Coagulans* dan *B. Stearothermophilus* sering menyebabkan kerusakan pada makanan kaleng dengan memproduksi asam tanpa gas, sehingga kerusakannya disebut "flat sour" (busuk asam tanpa gas). Spesies lainnya, misalnya *B. Polymyxa* dan *B. Macerans*, jika tumbuh pada makanan akan membentuk asam dan gas.

Clostridium

Jenis *Clostridium* bersifat anaerobik sampai mikroaerofilik, dan bersifat katalase negatif. Beberapa spesies membentuk spora dengan sporangium yang membengkak pada bagian tengah atau ujung sel. *Clostridium* dibedakan atas beberapa grup berdasarkan sifat-sifatnya, misalnya grup pemecah selulosa, pembentuk pigmen, mesofilik atau termofilik, proteolitik, sakarolitik (pemecah sakarida) atau fermentatif, dan sebagainya.

Beberapa spesies *Clostridium* bersifat patogen dan dapat menyebabkan keracunan makanan. *C. perfringens* memproduksi enterotoksin yang dapat menyerang saluran pencernaan dan menimbulkan gejala gastrointestinal. Jika tumbuh pada susu, spesies bakteri ini dapat membentuk asam dan gas sehingga menggumpalkan susu, disebut "stromy fermentation". *C. botulinum* memproduksi neurotoksin yang menyerang saraf dan menyebabkan kelumpuhan.

Desulfatomaaculum

Desulfatomaaculum adalah bakteri pembentuk spora yang bersifat anaerobik dan dapat mereduksi sulfat menjadi H_2S . Jenis ini terutama terdapat di dalam air buangan yang mengandung sulfat. Salah satu spesies yaitu *D. Nigrificans*, dahulu disebut *C. nigrificans*, bersifat termofil dan menyebabkan kerusakan pada pengalengan sayur-sayuran terutama kapri dan jagung, dengan membentuk warna hitam pada produk.

10.11 BAKTERI DENGAN SEL BERCABANG / BERTUNAS

Jenis yang termasuk dalam kelompok bakteri bercabang / bertunas adalah :

Corynebacterium

Brevibacterium

Microbacterium

Kurthia

Propionibacterium

Streptomyces

Streptoverticillum

Salah satu spesies *Corynebacterium*, yaitu *C. diphtheriae*, bersifat patogen (menyebabkan penyakit difteri) pada makanan dan hewan, tetapi jarang ditemukan pada makanan. *Brevibacterium* dan *Microbacterium* sering ditemukan dalam susu dan produk-produk susu, tetapi tidak menimbulkan perubahan yang nyata terhadap tekstur, cita-rasa maupun warna. *Microbacterium* merupakan salah satu bakteri tidak berspora yang sangat tahan panas, oleh karena itu salah satu cara untuk

mengidentifikasi bakteri ini adalah dengan memanaskan pada suhu 70°C selama 15 menit. *Propionibacterium* sp. digunakan dalam pembuatan keju Swiss untuk memproduksi cita-rasa dan memproduksi CO₂ sehingga menyebabkan terbentuknya lubang-lubang pada keju.

10.12 PENGELOMPOKAN BAKTERI BERDASARKAN SIFAT PERTUMBUHANNYA

Dalam mikrobiologi pangan, pengelompokan bakteri berdasarkan sifat pertumbuhannya pada makanan lebih penting daripada pengelompokan berdasarkan sifat-sifat lainnya. Dengan pengelompokan ini mudah diduga perubahan-perubahan yang akan terjadi pada makanan jika suatu bakteri yang termasuk dalam suatu kelompok tumbuh pada makanan.

Bakteri Asam Laktat

Sifat yang terpenting dari bakteri asam laktat adalah kemampuannya untuk memfermentasi gula menjadi asam laktat. Sifat ini penting dalam pembuatan produk-produk fermentasi seperti fermentasi sayur-sayuran (saurkraut, pickel, dan sebagainya), fermentasi susu (keju, yogurt, susu asam, dan sebagainya), dan fermentasi ikan. Karena produksi asam oleh bakteri asam laktat berjalan secara cepat, maka pertumbuhan mikroba lain yang tidak diinginkan dapat terhambat. Yang termasuk bakteri asam laktat adalah famili Lactobacillaceae, yaitu *Lactobacillus*, dan famili Streptococcaceae, terutama *Leuconostoc*, *Streptococcus* dan *Pediococcus*. *Streptococcus*, *Pediococcus* dan beberapa spesies *Lactobacillus* (lihat subbab mengenai bakteri basili gram positif, tidak berspora) bersifat homofermentatif, sedangkan *Leuconostoc* dan spesies *Lactobacillus* lainnya bersifat heterofermentatif.

Bakteri Asam Asetat

Kebanyakan spesies bakteri asam asetat termasuk dalam jenis *Acetobacter* dan *Gluconobacter*. Kedua jenis bakteri ini dapat mengoksidasi alkohol menjadi asam asetat, tetapi *Acetobacter* dapat

mengoksidasi asam asetat lebih lanjut menjadi CO₂. Spesies yang sering digunakan dalam industri asam asetat yaitu *A. aceti* dan *G. suboxydans*.

Bakteri Asam Butirat dan Bakteri Asam Propionat

Kebanyakan bakteri pembentuk asam butirat tergolong anaerobik pembentuk spora dari jenis *Clostridium*. Bakteri pembentuk asam propionat terutama adalah yang termasuk jenis *Propionibacterium*.

Bakteri Proteolitik

Bakteri yang tergolong proteolitik adalah bakteri yang memproduksi enzim proteinase ekstraseluler, yaitu enzim pemecah protein yang diproduksi di dalam sel kemudian dilepaskan keluar dari sel. Semua bakteri mempunyai enzim proteinase di dalam sel, tetapi tidak semua mempunyai enzim proteinase ekstraseluler. Bakteri proteolitik dapat dibedakan atas beberapa kelompok yaitu :

1. Bakteri aerobik atau anaerobik fakultatif, tidak membentuk spora, misalnya *Pseudomonas* dan *Proteus*.
2. Bakteri aerobik atau anaerobik fakultatif, membentuk spora, misalnya *Bacillus*.
3. Bakteri anaerobik pembentuk spora, misalnya sebagian spesies *Clostridium*.

Bakteri Lipolitik

Kelompok bakteri lipolitik memproduksi lipase, yaitu enzim yang mengkatalis hidrolisis lemak menjadi asam-asam lemak dan gliserol. Banyak bakteri yang bersifat aerobik dan proteolitik aktif juga bersifat lipolitik. Jenis yang mempunyai spesies bersifat lipolitik misalnya *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Serratia* dan *Micrococcus*. Salah satu contoh yang bersifat lipolitik kuat misalnya *P. fluorescens*.

Bakteri Sakarolitik

Kelompok bakteri ini menghidrolisis disakarida dan polisakarida menjadi gula yang lebih sederhana. Hanya beberapa bakteri yang bersifat amilolitik, yaitu memproduksi enzim amilase dan memecah pati

di luar sel, misalnya *Bacillus subtilis* dan *Clostridium butyricum*. Beberapa bakteri dapat memecah selulosa.

Spesies *Clostridium* kadang-kadang dibedakan atas yang bersifat proteolitik dan dapat memecah atau tidak dapat memecah gula, dan sakarolitik yang dapat memecah gula tetapi tidak memecah protein. Sebagai contoh, *C. lentoputrescens*, bersifat proteolitik tetapi tidak memecah karbohidrat, sedangkan *C. butyricum* adalah *nonproteolitik* tetapi memfermentasi gula.

Bakteri Pektolitik

Pektin adalah karbohidrat kompleks yang terdapat pada sayuran dan buah-buahan. Campuran enzim pektolitik, disebut pektinase, dapat memecah pektin dan menyebabkan busuk air atau busuk lunak (*soft rot*) pada sayuran dan buah-buahan, atau menyebabkan hilangnya kemampuan membentuk gel pada sari buah. Bakteri yang bersifat pektolitik misalnya beberapa spesies *Erwinia*, *Bacillus*, dan *Clostridium*.

Bakteri Termofilik

Termofil adalah kelompok bakteri yang mempunyai suhu optimum pertumbuhan minimal di atas 45°C, biasanya 55°C atau lebih. Bakteri ini sering tumbuh pada makanan yang disimpan pada suhu tinggi, misalnya di dalam lemari pemanas. Contoh bakteri termofilik misalnya *Bacillus stearothermophilus* penyebab kebusukan asam tanpa gas (*flat sour*), *Clostridium thermosaccharolyticum* penyebab busuk kembung pada makanan kaleng, dan *Lactobacillus thermophilus* yang merupakan bakteri asam laktat termofil.

Bakteri Psikrotropik

Kelompok bakteri ini sering tumbuh pada makanan yang didinginkan karena masih dapat tumbuh pada suhu sedikit di atas suhu pembekuan. Bakteri psikrotropik terutama ditemukan di dalam jenis *Pseudomonas*, *Flavobacterium* dan *Alcaligenes*, meskipun jenis lainnya seperti *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Enterobacter* dan *Arthrobacter* mungkin juga mengandung spesies yang bersifat psikrotropik.

Bakteri Halofilik

Bakteri halofilik membutuhkan konsentrasi NaCl minimal tertentu untuk pertumbuhannya. Kebutuhan garam untuk pertumbuhan optimum bervariasi, yaitu 5-20% untuk bakteri halofilik sedang, dan 20-30% untuk bakteri halofilik ekstrem. Spesies yang tumbuh baik pada medium yang mengandung 2-5% garam disebut halofilik ringan. Beberapa bakteri disebut halotoleran (tahan garam), yaitu bakteri yang dapat tumbuh dengan atau tanpa garam. Bakteri halofilik dan halotoleran sering ditemukan pada makanan berkadar garam tinggi atau di dalam larutan garam. Bakteri tersebut di antaranya tergolong dalam jenis *Halobacterium*, *Halococcus*, *Sarcina*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Pediococcus* dan *Alcaligenes*.

Bakteri Osmofilik

Bakteri osmofilik atau sakarofilik tumbuh pada medium dengan konsentrasi gula tinggi, tetapi kebanyakan bakteri yang disebut osmofilik sebenarnya hanya bersifat osmotoleran yaitu dapat tumbuh dengan atau tanpa konsentrasi gula tinggi, misalnya beberapa spesies dari *Leuconostoc*.

Bakteri Berpigmen

Jenis bakteri yang semua spesiesnya memproduksi pigmen adalah *Flavobacterium* yang memproduksi pigmen kuning sampai oranye, dan *Serratia* yang memproduksi pigmen merah, sedangkan jenis bakteri yang beberapa spesiesnya memproduksi pigmen misalnya *Micrococcus*.

Bakteri Pembentuk Lendir

Bakteri yang dapat membentuk lendir pada makanan di antaranya *Alcaligenes viscolactis* (*viscosus*) dan *Enterobacter aerogenes* yang menyebabkan pelendiran pada susu, dan *Leuconostoc sp.* yang memproduksi lendir di dalam larutan gula. Beberapa spesies *Streptococcus* dan *Lactobacillus* juga mempunyai galur yang dapat menyebabkan pelendiran pada susu. Beberapa galur dari *L. plantarum* dan laktobasili lainnya dapat menyebabkan pelendiran pada produk buah-buahan, sayuran dan sereal, misalnya cider, sauerkraut dan bir.

Bakteri Pembentuk Gas

Bakteri pembentuk gas dapat dibedakan atas dua kelompok, yaitu :

1. Bakteri yang memproduksi CO₂, misalnya *Leuconostoc*, *Lactobacillus* (heterofermentatif) dan *Propionibacterium*.
2. Bakteri yang memproduksi CO₂, misalnya *Escherichia*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Bacillus* (aerobasili), dan *Clostridium*.

Koliform

Suatu metode telah dikembangkan untuk membedakan antara koliform fekal (*Escherichia coli*) dan koliform nonfekal (*Enterobacter aerogenes*). *E. coli* memproduksi lebih banyak asam di dalam medium glukosa, yang dapat dilihat dari indikator merah metil, memproduksi indol, tetapi tidak memproduksi asetoin (asetil metil karbinol). Bakteri ini memproduksi CO₂ dan H₂ dengan perbandingan 1:1, dan tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

E. aerogenes memproduksi asam lebih sedikit, membentuk asetoin, tetapi tidak membentuk indol. Bakteri ini memproduksi CO₂ dan H₂ dengan perbandingan 2:1, dan dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Bakteri ini juga memproduksi gas lebih banyak daripada *E. coli*. Oleh karena itu, sering menyebabkan kerusakan pada susu, keju dan makanan lainnya. Kedua spesies memfermentasi gula menghasilkan asam laktat (*E. coli* lebih banyak), etanol, asam asetat dan suksinat, CO₂ dan H₂. Bakteri koliform lainnya mempunyai sifat-sifat di antara *E. coli* dan *E. aerogenes*.

10.13 PENGGUNAAN BAKTERI DALAM INDUSTRI

Berbagai jenis bakteri telah digunakan dalam Industri, baik industri pangan maupun industri kimia. Keuntungan penggunaan bakteri dalam industri, dibandingkan dengan kapang dan khamir, adalah pertumbuhannya yang lebih cepat dengan waktu generasi rata-rata kurang dari satu jam (20 menit sampai satu jam). Fermentasi makanan menggunakan bakteri dapat berlangsung secara spontan, misalnya pada pembuatan sayur asin dan pickel, atau dengan cara menambahkan kultur

bakteri, misalnya dalam fermentasi sosis, yogurt, nata de coco, susu asam, keju dan sebagainya. Dalam tabel 12.8 dapat dilihat berbagai produk makanan yang difermentasi oleh bakteri.

Tabel 10.8 Makanan yang difrementasi oleh bakteri dan bakteri yang berperan

Produk	Bahan mentah	Bakteri yang berperan
Sauerkraut	Irisan kubis	Spontan : Mula-mula : <i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Erwinia herbicola</i> Kemudian : <i>Leuconostoc mesenteroides</i> Tahap akhir : <i>Lactobacillus plantarum</i>
Produk	Bahan mentah	Bakteri yang berperan
Sayur asin	Sawi hijau	Spontan : Bakteri asam laktat, belum diidentifikasi (mungkin seperti sauerkraut)
Olive hijau	Olive	Spontan : Mula-mula : <i>Leuconostoc mesenteroides</i> Kemudian : <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>L. brevis</i> Tahap akhir : <i>L. plantarum</i>
Sosis	Daging sapi atau babi	<i>Pediococcus cerevisiae</i> <i>Micrococcus sp.</i>
Nata de coco	Air kelapa	<i>Acetobacter xylinum</i>
Yogurt	Susu	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i>

Starter keju	Susu	38°C <i>Streptococcus lactis</i> <i>S. cremoris</i> 50°C <i>S. thermophilus</i> <i>Lactobacillus lactis</i> <i>L. bulgaricus</i> <i>L. helveticus</i>
"Cultured buttermilk"	Susu skim	<i>S. lactis</i> <i>S. cremoris</i> <i>Leuconostoc citrovorum</i> <i>L. dextranicum</i>
Krim asam	Susu skim	Seperti "cultured buttermilk"
Susu Bulgaria	Susu skim	<i>L. bulgaricus</i>
Susu acidophilus	Susu	<i>L. acidophilus</i>
Kefir	Susu sapi, susu kambing, atau susu domba	<i>S. lactis</i> <i>L. bulgaricus</i> Khamir yang memfermentasi laktosa
Kumiss	Susu	Seperti kefir
Keju Swiss	Susu	<i>Propionibacterium shermanii</i>

Pelczar et. Al. (1977)

BAB 11

PUPUK

11.1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan suatu Negara Agraris dimana sebagian besar penduduknya bekerja pada sektor pertanian. Beberapa tahun terakhir ini Indonesia mengalami permasalahan cukup serius berkaitan dengan penurunan ketersediaan pupuk nasional.

Pupuk merupakan suatu bahan yang dapat meningkatkan kesuburan lahan dan produksi tanaman. Ketersediaan pupuk nasional yang terbatas menyebabkan tingginya harga pupuk yang berdampak pada penurunan produktivitas lahan, penurunan pendapatan masyarakat dan terdapat lahan-lahan pertanian dibiarkan tanpa diberdayakan. Penyebab utama terjadinya penurunan ketersediaan pupuk nasional adalah berkurangnya *ketersediaan bahan baku*.

Langkah strategis dalam rangka mengatasi permasalahan ketersediaan pupuk nasional dan tingginya harga pupuk adalah mencari bahan baku alternatif yang dapat menghasilkan pupuk yang berkualitas dan harga terjangkau. Salah satu bahan baku alternatif yang perlu dipertimbangkan sebagai bahan baku produksi pupuk adalah **TANAMAN**. Indonesia memiliki berbagai jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku alternatif produksi pupuk, beberapa jenis tanaman yang dapat dipergunakan sebagai bahan baku adalah **"Tanaman *Muntingia C.L dan Helianthus A. L* "** (Nama tanaman ini disamarkan berkaitan dengan HAKI)

Berdasarkan analisis laboratorium dan penelitian awal diketahui kedua jenis tanaman ini pada bagian daun dan ranting mengandung berbagai jenis ion seperti ion Nitrogen (N) : 2-5 %, Phosphor (P) : 4-6 %, Kalium (K) : 20-25% dan Magnesium (Mg) : 10-15 %. Ion-ion tersebut merupakan ion-ion unsur hara makro dalam pupuk sehingga kedua jenis tanaman tersebut dapat dimanfaatkan sebagai **pupuk**.

Dalam rangka optimalisasi pemanfaatan daun dan ranting tanaman sebagai bahan baku alternatif produksi pupuk, diperlukan pengembangan proses yang lebih baik. Salah satu pengembangan proses yang dapat mengoptimalkan daun dan ranting sebagai pupuk hijau adalah kombinasi proses **EKSTRAKSI DAN FERMENTASI**. Proses ekstraksi dan fermentasi dapat menghasilkan 2 jenis pupuk hijau yaitu **pupuk hijau cair dan padat**.

Tujuan khusus penelitian *Kajian Produksi dan Kinerja Pupuk Hijau Cair dan Padat dari Tanaman Muntingia C.L dan Helianthus A.L* adalah

- a. Mengkaji **jenis tanaman** yang dapat dipergunakan dan dikembangkan sebagai bahan baku alternatif untuk produksi pupuk
- b. Menghasilkan dua (2) jenis produk pupuk yaitu produk pupuk **hijau cair dan padat**
- c. Mengkaji **jenis pelarut** yang sesuai untuk produk pupuk hijau cair
- d. Mengkaji berbagai faktor yang berpengaruh terhadap kualitas produk pupuk hijau cair dan padat yaitu : **Rasio berat bahan padat (daun/ranting) terhadap volume pelarut, Waktu ekstraksi dan fermentasi dan Waktu kedaluwarsa pupuk cair**.

- e. Mengkaji **Kinerja** kedua jenis pupuk hijau (cair dan padat) pada tanaman padi
- f. Menghasilkan rancangan **prototipe** industri pupuk hijau cair dan padat

Disamping itu hasil penelitian ini dapat dipergunakan sebagai acuan dalam mengembangkan industri pupuk hijau cair di Indonesia, membantu mengembangkan sektor pertanian dan menciptakan lapangan pekerjaan baru

Urgensi (Keutamaan) Penelitian

- a. Pemerintah sering melakukan impor pupuk, hal ini menunjukkan kebutuhan pupuk nasional cukup besar sedangkan produksi dalam negeri tidak mencukupi sehingga sering terjadi kelangkaan pupuk di pasaran yang mengakibatkan terganggunya sektor pertanian, salah satu penyebab produksi pupuk dalam negeri tidak mencukupi adalah keterbatasan ketersediaan bahan baku di Indonesia.
- b. Industri pupuk di Indonesia telah memperkenalkan berbagai jenis pupuk seperti pupuk Urea, KCl, TSP, ZA, KNO_3 , MgSO_4 dan sebagainya. Pupuk-pupuk tersebut hanya mengandung satu unsur nutrient yang diperlukan oleh tanaman, sehingga pemakaian pupuk di pertanian dilakukan dengan mengkombinasikan pupuk-pupuk tersebut dan pada akhirnya biaya yang dikeluarkan semakin besar dan tidak efektif.
- c. Ketersediaan pupuk nasional yang terbatas menyebabkan tingginya harga pupuk yang berdampak pada penurunan produktivitas lahan, penurunan pendapatan masyarakat petani dan terdapat lahan-lahan pertanian dibiarkan tanpa diberdayakan. Dalam rangka mengatasi masalah ketersediaan pupuk dan menekan biaya operasional

pertanian perlu dilakukan langkah strategis dalam mengatasi permasalahan tersebut, salah satu langkah strategis yang perlu dikaji adalah pemanfaatan **TANAMAN** sebagai bahan baku alternatif produksi pupuk.

- d. Indonesia merupakan suatu negara yang memiliki kekayaan sumber daya alam yang melimpah, salah satu kekayaan sumber daya alam yang dimiliki adalah berbagai jenis tanaman yang dapat hidup dengan mudah di Indonesia. Berbagai jenis tanaman yang dimiliki perlu dilakukan pemberdayaan untuk menunjang kegiatan khususnya kegiatan sektor pertanian.
- e. Tanaman seperti tanaman Muntingia C.L dapat tumbuh di berbagai wilayah di Indonesia dan saat ini hanya dipergunakan sebagai **TANAMAN PENEDUH**. Tanaman Helianthus A.L merupakan **TANAMAN LIAR** yang dapat tumbuh subur di hutan dan dapat tumbuh diseluruh wilayah Indonesia. Ketersediaan tanaman Muntingia C.L dan Helianthus A.L di Indonesia cukup melimpah dan dapat dikembangkan menjadi tanaman **PELIHARAAN** yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai keperluan.
- f. Berdasarkan analisis laboratorium dan penelitian pendahuluan diketahui jenis tanaman Muntingia C.L dan Helianthus A. L mengandung berbagai jenis ion seperti : ion Nitrogen (N), Phosphor (P), Kalium (K), Magnesium (Mg). Konsentrasi ion-ion tersebut dalam setiap tanaman berbeda-beda. Tanaman Heliantus A.L biasanya mengandung ion Phosphor (P) yang tinggi dan dapat dimanfaatkan sebagai Pestisida Organik, sedangkan tanaman MCL mengandung ion Kalium (K) dan Magnesium (Mg) yang tinggi. Berdasarkan kandungan ion-ion tersebut maka kedua jenis tanaman

tersebut dapat dikembangkan menjadi bahan baku pupuk yang bersifat organik.

- g. Produksi pupuk hijau yang mempergunakan bahan baku daun/ranting selama ini tidak diproses secara baik atau hanya menggunakan proses komposting, pada proses ini daun/ranting ditambahkan effectivated microorganism (EM). Proses ini membutuhkan waktu yang lama kurang lebih 2-3 bulan dan juga akan kehilangan sejumlah ion akibat terjadinya LEACHING (pencucian) karena hujan. Proses komposting perlu dilakukan pengembangan dalam rangka optimalisasi proses dan kualitas produk pupuk, salah satu pengembangan proses komposting adalah Proses **EKSTRAKSI DAN FERMENTASI**. Proses ini dapat menghasilkan dua (2) jenis produk pupuk yaitu produk pupuk hijau cair dan padat.

11.2. PUSTAKA

a. Pupuk

Pupuk merupakan suatu bahan yang mengandung berbagai jenis unsur baik unsur makro seperti Nitrogen (N), Phosphor (P), Kalium (K), Magnesium (Mg), Kalsium (Ca) dan Sulfur (S) dan unsur mikro : Besi (Fe), Mangan (Mn), dan Clorida (Cl) yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman untuk pertumbuhan dan perkembangan agar dapat berproduksi menghasilkan produk yang dapat dimanfaatkan oleh manusia.

Berdasarkan bahan baku yang dipergunakan dalam produksi pupuk, terdapat 2 jenis pupuk yaitu *PUPUK ORGANIK* dan *ANORGANIK*. Pupuk organik merupakan pupuk dengan bahan baku organik seperti limbah dan sisa tanaman serta limbah atau kotoran hewan. Pupuk anorganik merupakan pupuk dengan bahan baku anorganik seperti pupuk UREA, TSP, KCl, ZA dan DAP maupun NPK.

Berdasarkan komposisi, pupuk dibagi menjadi pupuk *TUNGGAL* dan pupuk *MAJEMUK*. Pupuk tunggal yaitu pupuk yang hanya mengandung satu (1) unsur makro sedangkan pupuk majemuk mengandung lebih dari satu (1) unsur makro.

b. Kualitas Pupuk Organik

Kualitas pupuk ditentukan oleh bahan baku dan kandungan serta konsentrasi unsur-unsur makro dalam pupuk, Kualitas pupuk organik padat dan cair yang beredar dipasaran saat ini seperti tercantum dalam tabel 11.1 dan tabel 11.2.

Tabel 11.1. Kualitas Pupuk Organik Padat

No	Bahan Baku	Kandungan (%)		
		N	P ₂ O ₅	K ₂ O
1	Kotoran unggas	2,10	3,90	1,10
2	Kotoran sapi, serbuk gergaji, abu, kalsit	1,81	1,89	1,96
3	Kotoran ayam	4,10	6,10	2,30
4	Bahan organik, humus, & mikroba tanah	3,26	0,51	2,17
5	Campuran bahan organik	0,51	2,00	3,00

Berdasarkan tabel 11.1 diketahui bahwa kualitas pupuk organik padat yang beredar dipasaran saat ini mempunyai kualitas yang berbeda-beda dan dipengaruhi oleh bahan bakunya. Kualitas pupuk organik padat tersebut dipergunakan sebagai acuan dalam menentukan kualitas pupuk hijau padat yang akan dihasilkan dalam penelitian ini.

Tabel 11.2. Kualitas Pupuk Organik Cair

No	Merk Dagang	Kandungan (%)		
		N	P ₂ O ₅	K ₂ O
1	Alaska	5,00	2,00	2,00
2	Biomikro	1,20	0,10	0,14
3	Florest	2,20	0,20	3,00
4	Trisekar I	3,61	1,24	5,60
5	Pokon	5,00	12,00	4,00

Berdasarkan tabel 11.2 diketahui bahwa kualitas pupuk organik cair yang beredar dipasaran saat ini mempunyai kualitas yang berbeda-beda. Kualitas pupuk organik cair tersebut dipergunakan sebagai acuan dalam menentukan kualitas pupuk hijau cair yang akan dihasilkan dalam penelitian ini.

c. Pupuk Hijau

Pemberian nama pupuk *HIJAU* didasarkan atas bahan-bahan pembentuk pupuk itu sendiri yaitu tanaman atau bagian-bagian tanaman yang masih muda. Bagian-bagian tanaman ini ditanamkan dalam tanah dengan maksud agar dapat meningkatkan tersedianya bahan-bahan organik dan unsur-unsur hara makro dan mikro bagi pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

Secara umum ciri-ciri tanaman yang dapat dipergunakan sebagai pupuk hijau antara lain :

1. Pertumbuhan tanaman sangat cepat
2. Perakarannya dangkal, bagian atas lebat dan sekulen
3. Tanaman tahan terhadap kekeringan dan mampu tumbuh baik di tanah miskin hara

Pengaplikasian pupuk hijau dengan cara pembenaman secara langsung harus dilakukan secara tepat agar tanah dan tanaman pokok tidak dirugikan karena banyaknya bahan yang belum mengalami pelapukan.

Perkembangan selanjutnya bagian-bagian tanaman dilakukan proses komposting terlebih dahulu sebelum dimanfaatkan sebagai pupuk, pupuk ini biasa disebut pupuk *KOMPOS DAUN*. Pada proses komposting akan membutuhkan waktu yang cukup lama kurang lebih 2-3 bulan dan akan kehilangan berbagai jenis unsur hara akibat proses leaching oleh air atau air hujan.

Dalam rangka mengurangi waktu proses komposting dan menghindari hilangnya berbagai jenis unsur hara akibat leaching, perlu dikembangkan proses yang lebih efisien, proses yang lebih efisien yaitu proses ***EKSTRAKSI DAN FERMENTASI***.

d. Kuantitas dan Kualitas tanaman Muntingia C.L dan Heliantus

A.L

Indonesia memiliki sumber daya alam cukup melimpah yang perlu dikelola dengan baik untuk menghasilkan suatu produk yang bermanfaat bagi manusia. Salah satu sumber daya alam yang dimiliki Indonesia adalah berbagai Jenis Tanaman. Jenis tanaman Muntingia C. L merupakan jenis tanaman PENEDUH yang dapat dijumpai diberbagai wilayah di Indonesia dan mudah untuk dikembangkan, hal ini menunjukkan ketersediaan bahan baku tanaman Muntingia C. L diperoleh dengan mudah. Jenis tanaman Helianthus A.L merupakan tanaman liar hutan, jenis tanaman ini dapat tumbuh dengan mudah di Indonesia dan dapat dikembangkan dibeberapa daerah, hal ini menunjukkan ketersediaan bahan baku tanaman Heliantus A.L dapat diperoleh dengan mudah.

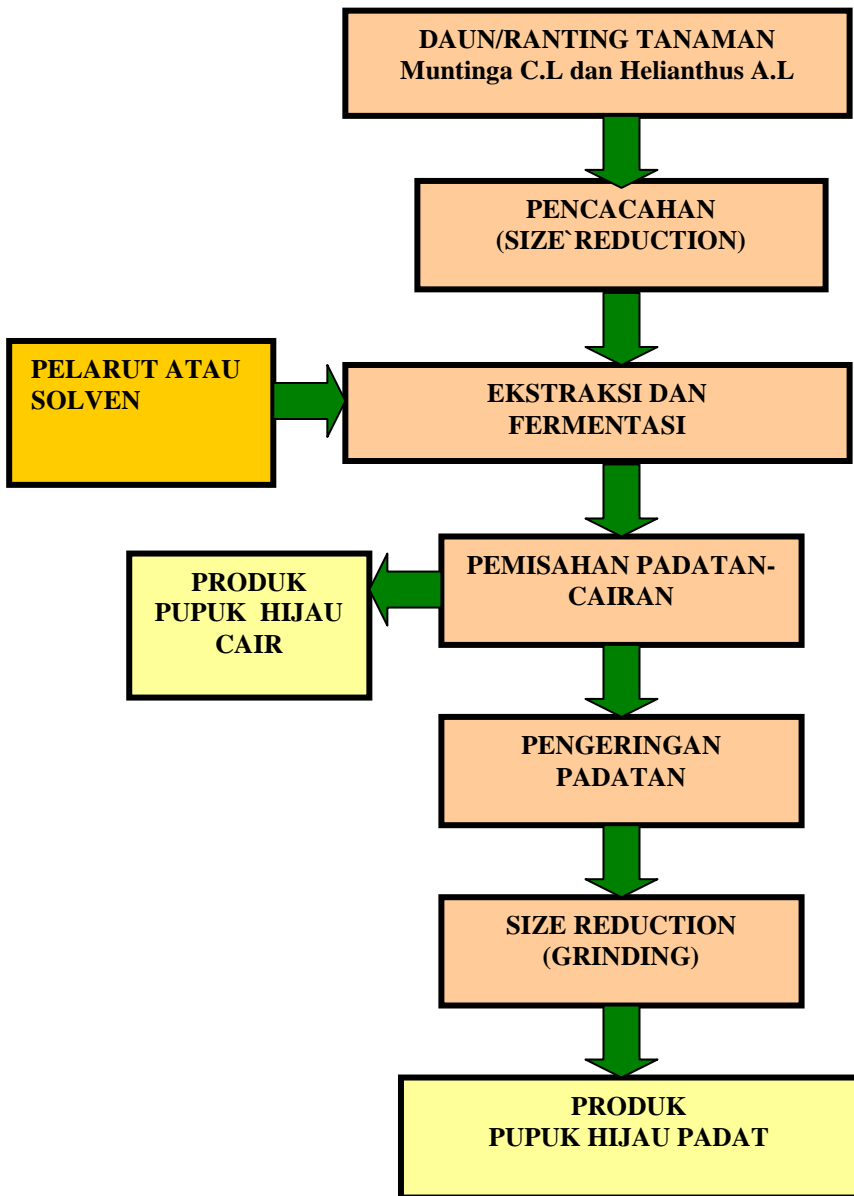
Berdasarkan hasil analisa laboratorium dan penelitian pendahuluan diketahui kedua jenis tanaman ini baik tanaman Muntingia C.L dan Helianthus A.L mengandung berbagai jenis ion unsur hara seperti : ion Nitrogen (N), Phosphor (P), Kalium (K), Magnesium (Mg), Kalsium (Ca) dan Sulfur (S). Ion-ion unsur hara ini sangat dibutuhkan oleh berbagai jenis tanaman sehingga kedua tanaman ini dapat dimanfaatkan sebagai pupuk. Konsentrasi ion-ion unsur hara dan logam berat dalam setiap daun dan ranting perlu dilakukan pengkajian lebih mendalam

untuk menghasilkan produk pupuk yang berkualitas dan tidak mencemari produk pertanian.

e. Proses Produksi Pupuk Hijau Cair dan Padat

Proses produksi pupuk hijau cair dan padat dari daun/ranting tanaman melalui berbagai tahapan operasi utama seperti **operasi pencacahan daun dan ranting (size reduction)**, **operasi ekstraksi dan fermentasi**, **operasi pemisahan padat-cair** dan **operasi pengeringan pupuk hijau padat**. Setiap tahapan operasi akan mempengaruhi kualitas produk, dengan demikian pada setiap tahapan operasi perlu dilakukan pengkajian untuk menghasilkan pupuk yang berkualitas.

Blok diagram penelitian produksi dan aplikasi pupuk hijau cair dan padat dengan kombinasi proses ekstraksi dan fermentasi seperti gambar 11.1.



Gambar 11.1. Blok Diagram Proses Produksi Pupuk Hijau Cair dan Padat

f. Faktor-faktor Yang Berpengaruh Terhadap Kualitas Produk Pupuk Hijau Cair dan Padat

Pada produksi pupuk hijau cair dan padat dengan kombinasi proses ekstraksi dan fermentasi melibatkan dua (2) proses utama yaitu proses ekstraksi dan fermentasi.

Proses **EKSTRAKSI** merupakan proses pemisahan unsur-unsur makro (Nitrogen, Phosphor, Kalium, Magnesium, Calsium dan Sulfur) dalam daun/ranting tanaman dengan mempergunakan **pelarut (solven)**. Sedangkan proses **FERMENTASI** merupakan proses peruraian (pembusukan) bahan organik oleh mikroorganisme. Proses Fermentasi bertujuan untuk menurunkan ratio C/N pada pupuk hijau padat, hal ini terjadi karena pada proses fermentasi dengan mikroorganisme akan dihasilkan gas berupa gas **CO₂** sehingga konsentrasi ion C akan menurun mengakibatkan ratio C/N akan turun atau kualitas produk pupuk hijau padat akan meningkat. Pada proses ini proses ekstraksi dan fermentasi berjalan bersamaan. Berdasarkan kajian proses produksi seperti terlihat dalam gambar 1, berbagai faktor yang berpengaruh terhadap kualitas produk pupuk hijau cair maupun padat seperti : ***Ukuran daun/ranting, jenis pelarut (solven), waktu proses ekstraksi dan fermentasi, pengadukan dan temperatur pengeringan*** produk pupuk hijau padat.

1. Ukuran daun dan ranting

Ukuran daun dan ranting berpengaruh terhadap proses ekstraksi dan fermentasi, semakin kecil ukuran daun/ranting akan mempermudah keluarnya ion-ion (unsure-unsur) makro dalam daun/ranting masuk kedalam media cair, Hal ini disebabkan semakin kecil ukuran

daun/ranting luas permukaan semakin besar dan mempermudah keluarnya ion atau unsur makro dari daun/ranting. Semakin kecil ukuran daun/ranting waktu proses ekstraksi dan fermentasi semakin cepat.

2. Jenis pelarut (solven)

Proses ekstraksi dan fermentasi daun/ranting tanaman dipengaruhi oleh jenis pelarut, hal ini disebabkan ion/unsur makro dalam daun/ranting dapat larut dengan sempurna pada jenis pelarut tertentu, pemilihan jenis pelarut berpengaruh terhadap kualitas pupuk hijau cair maupun padat. Jenis pelarut juga dapat memberikan spesifikasi produk pupuk yang diproduksi, seperti produk pupuk hijau cair ASAM yang bermanfaat pada lahan pertanian basa atau pupuk hijau cair BASA yang bermanfaat bagi lahan pertanian asam.

Pada penelitian ini jenis solven yang dipilih mengandung ion phosphate, hal ini dilakukan karena berdasarkan kajian awal diketahui kualitas produk pupuk hijau cair dan padat konsentrasi ion phosphatnya masih kurang, diharapkan dengan jenis pelarut yang mengandung ion phosphate lebih meningkatkan kualitas produk.

Kualitas produk pupuk hijau cair dan padat juga ditentukan oleh rasio (perbandingan) berat bahan daun/ranting terhadap volume pelarut. Semakin besar rasio berat bahan/volume pelarut kualitas produk pupuk hijau cair semakin tinggi tetapi jika terlalu besar kualitas produk akan tetap hal ini disebabkan rasio berat bahan/volume pelarut terlalu besar dapat menghambat proses ekstraksi. Dalam mengendalikan kualitas produk perlu mengkaji rasio berat bahan/volume pelarut yang optimal.

3. Waktu Proses Ekstraksi dan Fermentasi

Waktu ekstraksi dan fermentasi sangat mempengaruhi kualitas pupuk hijau cair dan padat, semakin lama waktu ekstraksi jumlah ion yang terakumulasi dalam pupuk cair semakin tinggi berarti kualitas pupuk cairnya semakin tinggi. Semakin lama waktu fermentasi dapat menurunkan konsentrasi ion nitrogen dalam pupuk hijau cairnya tetapi mempercepat proses pembusukan pupuk hijau padatnya.

Dalam rangka mengendalikan kualitas pupuk hijau cair dan padat diperlukan waktu ekstraksi dan fermentasi optimal.

4. Pengadukan

Pengadukan diperlukan untuk mempercepat proses EKSTRAKSI, semakin cepat pengadukan proses ekstraksi berlangsung dengan cepat dan mempercepat waktu proses produksi pupuk.

5. Temperatur pengeringan produk pupuk hijau padat

Temperatur pengeringan mempengaruhi kualitas produk pupuk hijau padat, temperatur pengeringan terlalu tinggi dapat menurunkan konsentrasi ion nitrogen dalam produk dan jika temperatur terlalu rendah produk masih mengandung air dan dapat mengakibatkan timbulnya jamur pada produk.

g. Kualitas Produk Pupuk Hijau Cair dan Padat

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan diketahui kualitas produk pupuk hijau cair dan padat dengan bahan baku daun/ranting tanaman tertentu seperti tercantum dalam tabel 11.3 dan tabel 11.4.

Tabel 11.3. Kualitas pupuk hijau cair

No	Unsur Hara (Ion)	Konsentrasi ion (% Berat)
1	Nitrogen (N)	2-3
2	Phosphor (P)	1-2
3	Kalium (K)	15-20
4	Magnesium (Mg)	8-12

Tabel 11.4. Kualitas pupuk hijau padat

No	Unsur Hara (Ion)	Konsentrasi ion (% Berat)
1	Nitrogen (N)	3-5
2	Phosphor (P)	0,5 - 1
3	Kalium (K)	10-15
4	Magnesium (Mg)	6-9

Berdasarkan penelitian pendahuluan diketahui kualitas produk pupuk hijau lebih baik dibanding dengan kualitas pupuk organik yang beredar di pasaran saat ini

h. Studi Pendahuluan

Penelitian-penelitian yang telah dilakukan berkaitan dengan usulan penelitian diantaranya :

- a. **Ketut Sumada, Susilawati, Mohamad Iskak (2007),** *"Pembuatan pupuk cair dari daun dan buah kersen"*, penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan pupuk cair. Dalam penelitian ini jenis pelarut yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah air. Berdasarkan hasil penelitian diketahui kualitas pupuk

cair yang dihasilkan mengandung ion Nitrogen (2,7%), Phosphor (0,56%), Kalium (20%) dan Magnesium (11%) dan waktu ekstraksi dan fermentasi terbaik adalah 7 minggu.

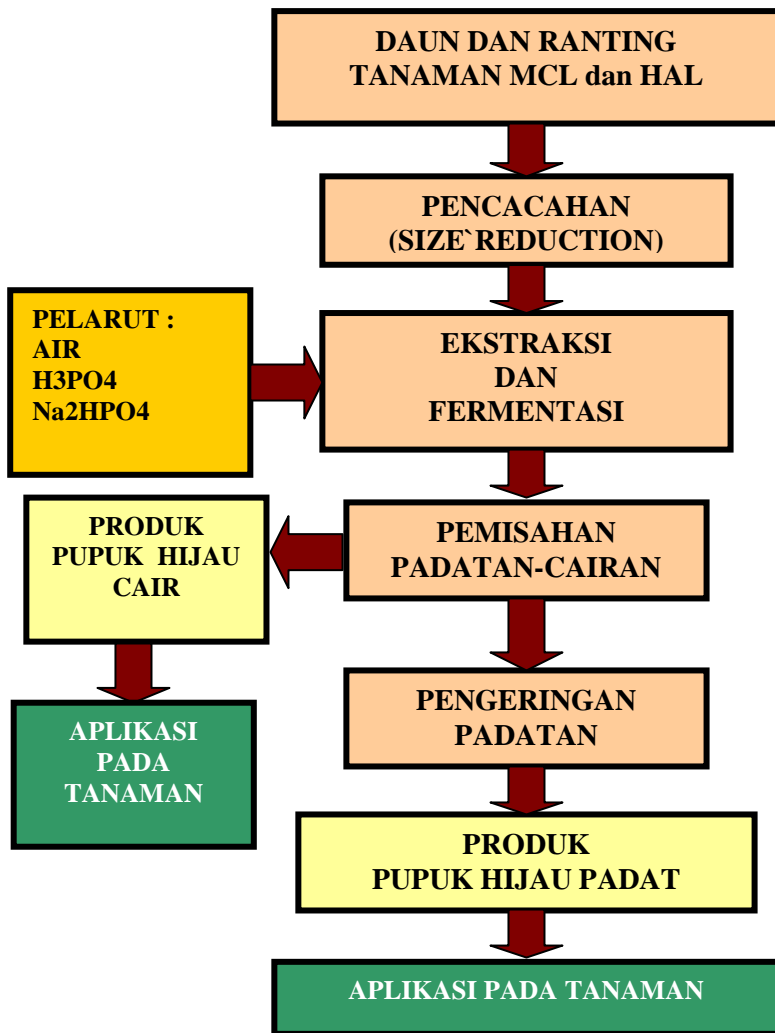
- b. **Ketut Sumada, Niinik K, Yudi Prasetya (2008), " *Kajian produksi pupuk cair dari batang pohon pisang*",** penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan pupuk organik cair dari limbah batang pohon pisang. Jenis pelarut yang dipergunakan dalam penelitian adalah air. Berdasarkan hasil penelitian diketahui batang pohon pisang mengandung berbagai jenis ion seperti Kalium (K), Phosphor (P) dan Kalsium (Ca). Kualitas produk pupuk organik cair : Ion Kalium (K) : 7-9 %, Phosphor (P) : 3-5% dan Kalsium (Ca) : 6-8% dan waktu ekstraksi dan fermentasi 6 minggu.
- c. **Caecilia Pujiastuti, Ketut Sumada (2007), " *Kajian produksi dan Aplikasi biosolid Pada Tanaman Tembakau, Cabe dan Tomat*",** Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan **biosolid** dari air limbah industri dan mengaplikasikan biosolid tersebut pada tanaman tembakau, cabe dan tomat. Hasil penelitian menunjukkan daun tembakau lebih kecil tetapi lebih tebal, jumlah daun panen lebih banyak dan dosis biosolid : 150 gram/pohon. Untuk tanaman cabe, kualitas cabe lebih tahan lama, produksi naik 10-15% dan dosis : 150 gram/pohon. Untuk tanaman tomat, hasil produksi rata-rata perpokon dapat mencapai 3-4 kg dengan dosis : 200 gram/pohon.

11.3. METODE PENELITIAN

Penelitian *Kajian Produksi dan Kinerja Pupuk Hijau Cair dan Padat dari Tanaman Muntingia C.L dan Helianthus A.L* bertujuan untuk produksi dan mengaplikasikan pupuk hijau cair dan padat pada tanaman padi dan jagung serta menghasilkan prototipe industri pupuk hijau cair dan padat.

Penelitian Tahun Pertama

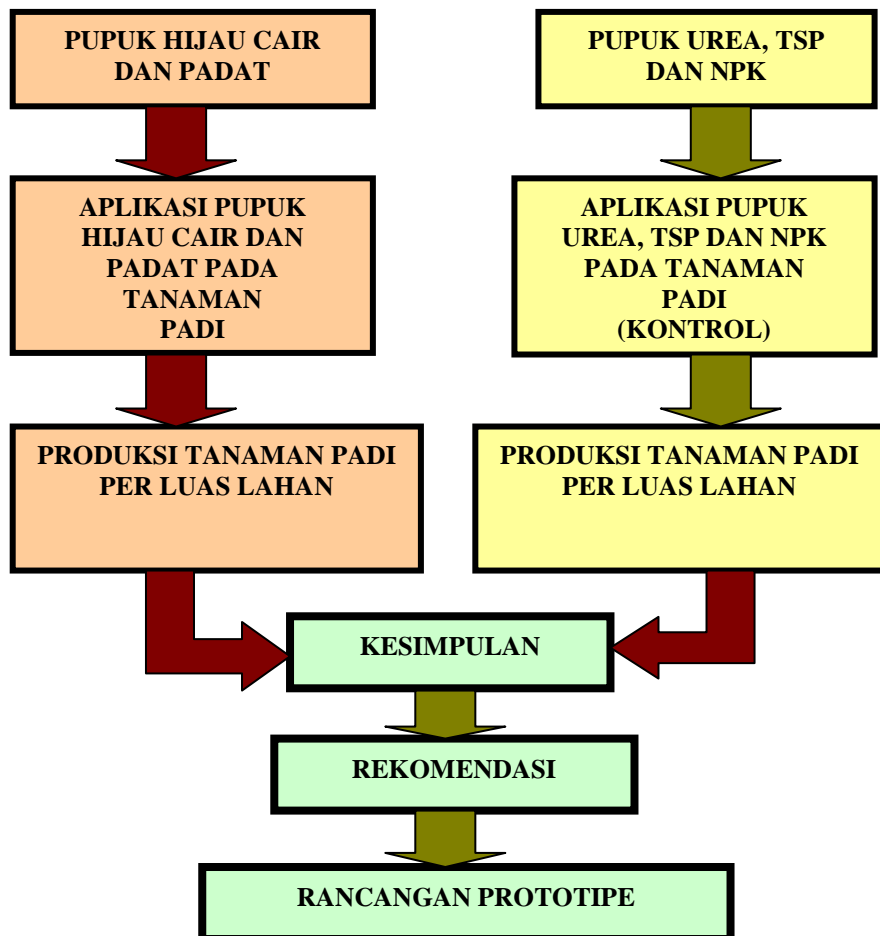
Metode penelitian yang dipilih adalah **penelitian laboratorium** dan **penelitian lapangan** yang dilaksanakan dalam dua (2) tahun. Penelitian laboratorium bertujuan untuk menghasilkan produk pupuk cair dan padat sedangkan penelitian lapangan untuk mengkaji aplikasi pupuk hijau cair dan padat pada tanaman. Blok diagram penelitian seperti gambar 11.2.



Gambar 11.2. Blok Diagram Proses Produksi dan Kinerja Pupuk Hijau Cair dan Padat pada tanaman padi dan jagung

Penelitian Tahun Kedua

Penelitian pada tahun kedua merupakan **penelitian lapangan** yang bertujuan mengkaji kinerja pupuk hijau cair dan padat pada tanaman. Jenis tanaman yang menjadi pengkajian adalah tanaman padi. Sebagai pembandingan (kontrol) dipergunakan pupuk Urea, TSP dan NPK. Blok diagram penelitian tahun kedua seperti gambar 11.4.



Gambar 11.4. Blok Diagram Penelitian Tahun Kedua

1. Kajian Aplikasi Pupuk Hijau Cair dan Padat

Kajian aplikasi pupuk hijau cair dan padat dilakukan dengan memvariasi dosis pupuk hijau cair dan padat yang diberikan per luas lahan pada tanaman padi. Variasi dosis pupuk hijau cair dan padat dilakukan **4 perlakuan** dengan luas lahan kurang lebih 400 m² per perlakuan. Disamping itu sebagai pembanding dipergunakan pupuk kombinasi antara Urea, TSP dan NPK.

Luas lahan yang diperlukan pada penelitian lapangan ini adalah $4 + 1 \times 400 \text{ m}^2 = 2000 \text{ m}^2$.

Penelitian dilaksanakan di Kabupaten Kediri Jawa Timur.

Hasil yang diharapkan dalam kajian ini :

- Ø Data jumlah produksi gabah per dosis pupuk hijau per luas lahan
- Ø Dosis pupuk hijau cair dan padat yang optimal
- Ø Biaya operasional pemakaian pupuk hijau cair dan padat per berat produksi gabah.
- Ø Rekomendasi pemakaian pupuk hijau cair dan padat pada sektor pertanian

Penelitian ini membutuhkan waktu kurang lebih lima (5) bulan.

2. Prototipe.

Prototipe yang dimaksud adalah desain rancangan industri pupuk hijau cair dan padat, rancangan prototipe didasarkan pada kapasitas produksi pupuk hijau cair dan padat tertentu dan perhitungan dimensi peralatan berdasarkan data-data proses yang diperoleh pada penelitian tahun pertama.



DAFTAR PUSTAKA

- Aguide to The Biosolids Risk Assessment for The EPA Part 503 Rule (1995),
<http://www.epa.gov/owm/mtb/biosolids/503rule/index.htm>
- Agricultural Uses of Municipal, Animal and Industrial byproducts : Current and Potential Agricultural Uses for Biosolids and Other Recyclable Municipal Residues,
<http://www.ars.usda.gov/is/np/agbyproducts/agbyintro.htm>
- Beshr Sukkariah (2005), "Land Application of Biosolids to Provide Plant Nutrients, Enhance Soil Properties, and Prevent Water Quality Impairment",
- Biosolids Applied to Land : Advancing Standards and Practices (2002),
<http://www.epa.gov/waterscience/biosolid/nas/complete.pdf>
- Biosolids Generations, Use and Disposal in The USA (1999),
<http://www.epa.gov/epaoswer/non-hw/compost/biosolids.pdf>
- Boryana Trusheva, Dorina Trunkova, Vassya Bankova (2007), "Different Extraction Methods of Biologically Active Components From Propolis", Journal Chem Cent, 1 : 13
- Bridgwater, A.V, (2003), "Renewable fuel and Chemicals by Thermal processing of Biomass", Chemical Engineering Journal, vol 91, pp 87-102
- Biocher, J.C. dan Busta, F.F. 1983. Bacterial Spore Resistance to Acid. Food Technol. 37 (11) : 87 – 99.
- Brock, T.D. 1974. Biology of Microorganism. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs. New Jersey.

- Carter, G.R. 1976. *Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology*. Michigan State University Press., East Lansing.
- Cook, F.K. dan Pierson, M.D. 1983. Inhibition of Bacterial Spores by Antimicrobials. *Food Technol.* 37 (11) : 115 – 126.
- Cooney, C.L. 1981. Growth of Microorganisms. Dalam : *Biotechnology*, vo. 1, *Microbial Fundamentals* (Rehm, H.J. dan Reed, G., eds). Verlag Chemie, Weinheim.
- David Oerke, P.E, and Jose Velasquez P.E (2003), "Biosolids Dewatering and Composting Facilities", *Footnotes Fourth Quaters*
- Doores, S. 1983. Bacterial Spore Resistance-species of Emerging Importance. *Food Technol.* 37 (11) : 127 – 134.
- Dwidjoseputro, D. 1984. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Penerbit Djambatan.
- Evanylo, G.K. (1999). Agricultural land application of biosolids in Virginia: "Regulations". Virginia Cooperative Extension Publication 452-302.
- Evanylo, G.K. (1999). Agricultural land application of biosolids in Virginia: "Managing biosolids for agricultural use". Virginia Cooperative Extension Publication 452-303.
- Evanylo, G.K. (1999). Agricultural land application of biosolids in Virginia: Risks and concerns. Virginia Cooperative Extension Publication 452-304.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Diterbitkan Bekerja Sama dengan PAU Pangan dan Gizi IPB. Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama , Jakarta. 1992.
- Fardiaz,S. 1987. *Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan*. Lembaga sumber Daya Informasi.
- Foegeding, P.M. 1983. Bacterial Spore Resistance to Chlorine Compound. *Food Technol.* 37 (11) : 100 – 104.

- Frazier, W.C. and Westhoff, 1981. Food Microbiology. 3th Ed. Tata Mc Graw-Hill Publishing Company Ltd. New Delhi.
- Goldstein, N and Block, D., (1997), "Biosolids Composting Hold Its Own", BioCycle Journal of Composting and Recycling 38 : 12, 67-74
- Goldstein, N and Gray, K., (1999), "Biosolids Composting in the United States", BioCycle Journal of Composting and Recycling 40 : 1, 63-73
- G. Tian, T.C. Granato, R.I Pietz (2006), "Effect of Long-Term Application of Biosolids for Land Reclamation on Surface Water Chemistry", Journal Environ Qual 35 : 101-103
- Gombas, D.E. 1983. Bacterial Spore Resistance to Heat. Food Technol. 37 (11) : 105 – 110.
- Hue, N. V, (2001), "Land Application of Biosolids" University of Hawaii
- Jay, J.M. 1986. Modern Food Microbiology. 3th Ed. Van Nostrand Reinhold Company. New York.
- Lee W Jacobs, and Delliana S. Mc Creary, (2001), "Utilizing Biosolids on Agricultural Land" Extension Bulletin E-2781, New York.
- Letecia S, Sonon dan Julia Gaskin, (2009), "Metal Concentration Standards for Land Application of Biosolids and Other Byproduct in Georgia", Journal of Environmental Quality 22: 335-348.
- Moat, A.G. 1979. Microbial Physiology. John Wiley and Sons, New York.
- Nathan Jenness, (2001), "Mine Reclamation Using Biosolid", University of Arizona
- Pelczar, M.J.Reid, R.D. dan E.C.S. Chan 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi (Terjemahan) Universitas Indonesia (UI) Press. Jakarta.
- Peppler, H.J. 1977. Yeast Properties Adversely Affecting Food Fermentation. Food Techol. 31 (2) : 62 – 65.

- Phaff, H.J., M.W. Miller dan E.M. Mark, 1968. The Life of Yeast. Harvard Univ. Press, Cambridge, Massachusetts.
- Ray, B. 1996. Fundamental Food Microbiology, CRC Press Boca Raton.
- Ristanto, 1989. Kursus Singkat Fisiologi Bakteri. Petunjuk Praktikum. PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Sewage Biosolids – Managing Urban Nutrients Responsibly for Crop Production, webmaster.omafra@ontarion.ca
- Skodras, G, Grammelis, P, (2006), "Pyrolysis and Combustion Characteristics of Biomass and Waste-Derived Feedstock", Industrial and Engineering Chemistry Research, vol 45, pp 3791-3799
- Sommers, L. (1977). "Chemical composition of sewage sludges and analysis of their potential use as fertilizers". J. Environ. Qual. 6:225-239.
- Stein, L., Boulding, R., Helmick, J. and Murphy, P., (1995). "Process Design Manual: Land Application of Sewage Sludge and Domestic Septage". U.S. Environmental Protection Agency. Cincinnati, Ohio.
- Stevenson, K.E. dan B.D. Shafer 1983. Bacterial Resistance to Hydrogen Peroxide. Food Techol. 37 (11) : 111 – 114.
- Kuswanto, K.R. dan S. Sudarmadji 1989. Mikrobiologi Pangan. PAU Pangan dan Gizi. Uni versitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- U.S. EPA. (1995). Process Design Manual: Land Application of Sewage Sludge and Domestic Septage, Office of Research and Development. EPA/625/R-95/001. US .EPA Washington, D.C.
- U.S. Environmental Protection Agency. (1984). "Use and disposal of municipal wastewater sludge". EPA/625/10-84/003. US .EPA, Washington D.C

- U.S. Environmental Protection Agency, (2001), "Biosolids Technology Fact Sheet, In-vessel Composting of Biosolids", EPA 832-F-00-061, US .EPA Washington D.C
- U.S. Environmental Protection Agency, (1993), "Standards for the Use or Disposal of Sewage Sludge" (40, Code of Federal Regulation part 503). US .EPA Washington D.C
- U.S. Environmental Protection Agency, (1999), "Environmental Regulations and Technology : Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge", US. EPA, Washington DC.
- Use of Biosolids for Mine Reclamation (2009), "Assessment of Impact on Acid Drainage and Nutrient Discharge" [http ://jeq.scijournals.org/cgi/content/ abstract/35/4 /1118](http://jeq.scijournals.org/cgi/content/abstract/35/4/1118)
- Wibowo, D. dan Ristanto 1988. Petunjuk Khusus Deteksi Mikrobia Pangan. PAU Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Wurtz William O, (1980), "Methode for Lime Stabilization of Wastewater Treatment Plants Sludges", United States Patent 4306978



Ni Ketut Sari, kini menjadi dosen tetap (Lektor Kepala) di Jurusan Teknik Kimia Kemudian menyelesaikan Program Sarjana (S1) dengan gelar Sarjana Teknik (Insinyur) Kimia di Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jawa Timur pada tahun 1990. Kemudian menyelesaikan Program Pascasarjana (S2) Program Studi Teknik Kimia dengan gelar Magister Teknik (MT) di Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya pada tahun 2001. Kemudian menyelesaikan Program Doktor (S3) Program Studi Teknik Kimia dengan gelar Doktor Teknik Kimia (Dr) di Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya pada tahun 2007.

Sebagai Pegawai Negeri Sipil (PNS) Departemen Pertahanan Republik Indonesia sejak tahun 1992 hingga sekarang. Pernah menjabat sebagai Kasie Laboratorium Instrumentasi Teknik Kimia pada tahun 2001 sampai tahun 2009.

Buku yang pernah ditulis adalah "*Simulasi Sistem Biner Etanol-Air, Aseton-n-Butanol, Aseton-Etanol, Etanol-n-Butanol Dengan Distilasi Batch Sederhana*", Penerbit Mitra Alam Sejati, ISBN:979-3455-87-X, Surabaya, Tahun 2006. "*Simulasi Pemisahan Multi Komponen Yng Berpotensi Membentuk Campuran Azeotrop Heterogen (Butanol-Air) Dengan Berbagai Harga Refluk Ratio*", Penerbit Mitra Alam Sejati, ISBN:979-3455-68-X, Surabaya, Tahun 2006. "*Simulasi Sistem Terner Aseton-n-Butanol-Etanol Dengan Distilasi Batch Sederhana*", Penerbit Mitra Alam Sejati, ISBN:979-3455-88-8, Surabaya, Tahun 2007. "*Penentuan Peta Kurva Residu Sistem Terner Aseton-n-Butanol-Etanol Dengan Distilasi Batch Sederhana*", Penerbit Mitra Alam Sejati, ISBN:979-3455-89-6, Surabaya, Tahun 2007. "*Simulasi Pengaruh Tekanan Terhadap Kinerja Kolom Distilasi Pada Pemisahan Campuran Aseton-Etanol-Air-n-Butanol*", Penerbit ASRI press, ISBN:978-979-1483-30-8, Sidoarjo, Jawa Timur, Tahun 2009. "*ANALISA INSTRUMENTASI*", Penerbit Yayasan Humaniora, ISBN:978-979-3327-67-9, Klaten, Jawa Tengah, Tahun 2009.

Selain buku-buku tersebut diatas, penulis pernah mendapatkan dana penelitian Hibah Bersaing tahun 2009 dan tahun 2010 dari Direktorat Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat (DP2M) Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional. Selain karya tulis ilmiah yang berupa hasil penelitian, penulis juga menulis makalah ilmiah yang disajikan dalam forum ilmiah secara Nasional dan Internasional, Jurnal ilmiah maupun dalam Jurnal Terakreditasi.